



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

OZONOTERAPIA INTRA-ARTICULAR EM BOLETOS DE CAVALOS COM
OSTEOARTRITE: QUAIS OS SEUS EFEITOS MELHORADORES DA PATOLOGIA?

JOÃO FILIPE DA SILVA MENDES

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Paula Alexandra Botelho
Garcia de Andrade Pimenta Tilley

Doutora Maria Rita Martins Garcia da
Fonseca

Capitão Daniela Cristina Magalhães
Teixeira

ORIENTADORA

Capitão Daniela Cristina Magalhães Teixeira

CO-ORIENTADOR

Doutor José Paulo Pacheco Sales Luís

2018
LISBOA





UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

OZONOTERAPIA INTRA-ARTICULAR EM BOLETOS DE CAVALOS COM
OSTEOARTRITE: QUAIS OS SEUS EFEITOS MELHORADORES DA PATOLOGIA?

JOÃO FILIPE DA SILVA MENDES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Paula Alexandra Botelho
Garcia de Andrade Pimenta Tilley

Doutora Maria Rita Martins Garcia da
Fonseca

Capitão Daniela Cristina Magalhães
Teixeira

ORIENTADORA

Capitão Daniela Cristina Magalhães Teixeira

CO-ORIENTADOR

Doutor José Paulo Pacheco Sales Luís

2018
LISBOA

AGRADECIMENTOS

Agradeço em especial aos meus pais, os meus grandes pilares, que sempre me proporcionaram tudo na vida, inclusive a oportunidade de frequentar o curso de Medicina Veterinária.

Ao meu irmão, também ele essencial na minha vida.

Ao José João Campeão, que apesar de estar longe, nunca deixou de ser um amigo e irmão para tudo.

À Mariana, minha namorada, que acompanhou todo este processo de realização da tese e que me apoiou em tudo, desde o início.

Aos meus amigos e colegas, Carlota, Augusto, Cilinha, Diogo, Zuca, Manel, Daniela, Carmitos e Nuno, que me acompanharam ao longo de todo o curso, não só na faculdade, mas para todo o lado.

Aos meus amigos, Maria, Tavares, Soares, Ruiva, Luís, Constança e Fred, por toda a amizade.

Ao meu amigo e colega Rúben, por toda a amizade e ajuda que me prestou na realização desta dissertação.

À Dra. Daniela Teixeira, pela amizade e por todos os ensinamentos durante o período de estágio.

Ao Prof. Dr. Sales Luís, por todo o apoio dado tanto como professor como enquanto co-orientador desta dissertação.

À Professora Helena Silva, por toda a ajuda e tempo que dedicou a esta tese.

Ao Dr. Manuel Lamas, por toda a amizade, por me ter acolhido em sua casa, por tudo o que me ensinou e por toda a confiança que depositou em mim.

Ao Rui Vidinha, pela amizade e por me ter incutido o gosto pelos cavalos, que me levou a escolher este curso.

OZONOTERAPIA INTRA-ARTICULAR EM BOLETOS DE CAVALOS COM OSTEOARTRITE: QUAIS OS SEUS EFEITOS MELHORADORES DA PATOLOGIA?

A osteoartrite é a principal causa de claudicação na espécie equina, sendo um factor limitante sobretudo para cavalos de desporto.

Existem inúmeras formas de tratamento da osteoartrite (OA), sendo a corticoterapia a mais utilizada.

O ozono é uma molécula com inúmeras acções terapêuticas de elevado interesse na medicina, sobretudo devido à escassa ocorrência de efeitos secundários.

A ozonoterapia é um tratamento que tem sido um sucesso relativamente recente na Medicina Humana, tendo já sido também instaurada na Medicina Veterinária com bons resultados.

Este trabalho engloba um estudo experimental, em que foram feitas administrações de Ozono intra-articular em boletos de cavalos com osteoartrite na mesma articulação.

Os cavalos que foram seleccionados para o estudo tinham vários requisitos a cumprir, entre eles, o mais importante é que tinham de ter uma claudicação com origem num boleto e devido a osteoartrite. Tal requisito deveu-se ao facto de o objectivo principal do estudo se basear na avaliação da melhoria da claudicação, após o tratamento com ozono.

Após terminado o estudo, os resultados foram satisfatórios ao revelarem melhorias em todos os cavalos intervenientes no estudo, não só a nível da dor que estes exibiam e se revelava na claudicação mas também a nível da inflamação articular. Podemos assim concluir que a Ozonoterapia intra-articular em equinos pode vir a ser uma alternativa cada vez mais a ter em conta.

Palavras-chave: Ozono, cavalo, osteoartrite, claudicação

ABSTRACT

INTRA-ARTICULAR OZONE THERAPY IN FETLOCKS OF HORSES WITH OSTEOARTHRITIS: WHICH ARE ITS IMPROVING EFFECTS IN THE DISEASE?

Osteoarthritis is the main cause for lameness in the equine species, as well as a restrictive factor mainly for sport horses.

There are numerous treatment methods when it comes to osteoarthritis (OA), but corticotherapy is the most commonly used.

The ozone is a molecule with several and highly relevant therapeutic uses in medicine, above all because the side effects are rare.

Ozone therapy has been, therefore, a relatively recent success in human medicine, and it has also already been introduced in veterinary medicine with good results.

This thesis includes an experimental study in which several administrations of intra-articular ozone in fetlocks of horses with osteoarthritis were made.

The horses selected for this study had to comply to certain requisites, among which the most important was the fact that they had to show a lameness caused by osteoarthritis and originated in one of the fetlocks. This requisite was important because the main goal of the study was based on assessing the improvement in lameness after the treatment with ozone.

After the end of the study, the results were satisfactory and revealed improvement in all the horses treated, not only in terms of the pain level each one of them presented and was evident in the lameness, but also when it came to articular inflammation. We can thus conclude that intra-articular ozone therapy in equines can become a more and more valid alternative.

Keywords: ozone, horse, osteoarthritis, lameness

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	I
RESUMO	II
ABSTRACT	III
ÍNDICE	IV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
ÍNDICE DE TABELAS.....	VIII
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	IX
LISTA DE ABREVIATURAS	X
PARTE I – ESTÁGIO CURRICULAR.....	1
NOTA INTRODUTÓRIA	3
PARTE II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
1. OZONO	5
1.1 HISTÓRIA DA OZONOTERAPIA	5
1.2 PRODUÇÃO E CONCENTRAÇÃO DE OZONO MEDICINAL	5
1.3 ACÇÕES BIOLÓGICAS DO OZONO.....	6
1.4 MECANISMO DE ACÇÃO DO OZONO.....	7
1.5 TOXICIDADE	10
1.6 CONTRAINDICAÇÕES	11
1.7 APLICAÇÕES EM MEDICINA VETERINÁRIA	11
2. ARTICULAÇÃO.....	13
2.1 MEMBRANA SINOVIAL	13
2.2 LÍQUIDO SINOVIAL	14
2.3 TECIDOS MOLES PERIARTICULARES	14
2.4 OSSO SUBCONDRA.....	15
2.5 CARTILAGEM ARTICULAR	15
2.6 COLAGÉNEO	16
2.7 PROTEOGLICANOS	16
2.8 CONDRÓCITOS.....	16
2.9 NUTRIÇÃO	17
2.10 INERVAÇÃO.....	17
2.11 PRESSÃO INTRA-ARTICULAR	17
3. OSTEOARTRITE	18
3.1 CLASSIFICAÇÃO DA OA	18
3.2 FACTORES DE RISCO.....	18
3.3 MECANISMO FISIOPATOLÓGICO.....	19
3.3.1 Componentes envolvidos	20

a)	Membrana sinovial.....	20
b)	Condrócitos.....	20
c)	Enzimas responsáveis pela degradação da matriz (MMP's)	21
d)	Mediadores inflamatórios	21
4.	EXAME DE CLAUDICAÇÃO	22
4.1	HISTÓRIA CLÍNICA.....	22
4.2	EXAME ESTÁTICO.....	22
4.3	EXAME DINÂMICO.....	23
4.4	MANIPULAÇÃO DO CASCO.....	23
4.5	TESTES DE FLEXÃO	23
4.6	ANESTESIAS LOCO-REGIONAIS	24
5.	MEIOS DE DIAGNÓSTICO COMPLEMENTARES	24
5.1	Radiologia	24
5.2	Ecografia	26
5.3	Artroscopia	26
5.4	Ressonância Magnética.....	27
5.5	Tomografia computadorizada	28
5.6	Cintigrafia nuclear	29
5.7	Análise do líquido sinovial.....	30
5.8	Diagnóstico laboratorial da OA por meio de biomarcadores.....	31
6.	TRATAMENTO MEDICO DA OA.....	33
6.1	Anti-inflamatórios não esteróides (AINEs)	33
6.2	Corticosteróides	34
6.3	Hialuronato de sódio	35
6.4	Glicosaminoglicanos polisulfatados (Adequan®).....	35
6.5	Pentosan polifosfato.....	36
6.6	Ácido tiludrónico (Tildren ®).....	36
6.7	Terapias mais recentes para a OA	36
PARTE III – OZONOTERAPIA INTRA-ARTICULAR NA ARTICULAÇÃO METACARPO-		
FALÂNGICA DE CAVALOS COM OSTEOARTRITE: QUAIS OS SEUS EFEITOS		
	MELHORADORES DA PATOLOGIA?	39
7.	OBJECTIVOS DO ESTUDO	39
8.	INTRODUÇÃO.....	39
9.	MATERIAL E MÉTODOS.....	40
10.	RESULTADOS	47
11.	DISCUSSÃO.....	55
12.	CONCLUSÃO	56
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

ANEXOS.....70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Painel digital de gerador de ozono - original	6
Figura 2 - Propriedades terapêuticas do ozono (Garcia et al., 2014) - adaptada.....	7
Figura 3 - Esquema representativo da formação de ROS e LOPs (Viebhan-Haensler, 2002) - adaptada.....	8
Figura 4 - Infiltração paravertebral de Ozono (Ballardini E, 2005) - adaptada	12
Figura 5 - Estrutura anatômica da articulação do cavalo (Rocha F, 2008) - adaptada	13
Figura 6 - Imagem radiográfica. Vista latero-medial (LM) da extremidade distal. Evidência de OA da articulação metacarpo-falângica (boleto): efusão articular, osteófitos (setas) e esclerose subcondral da Falange proximal. (Weller R & Sinclair C, 2013) - adaptada	25
Figure 7 - Imagem ecográfica obtida da face dorsal do boleteo (1=pele, 2=cápsula articular, 3=sinóvia dorsal, 4=côndilo metacarpiano) (Ann. Méd. Vét. 2006) – adaptada	26
Figura 8 - Imagem artroscópica da articulação do boleteo (AAEP, 2006) - adaptada.....	27
Figura 9 - Ressonância magnética do boleteo (AAEP, 2012) - adaptada	28
Figura 10 - Tomografia computadorizada, plano transverso. Irregularidade do osso subcondral na região dorsal do 3º metacarpo (Machado VMV, Aguiar ACS, Viana GF, Crosignani NO & Puoli JNP, 2016) - adaptada.....	29
Figura 11 - Cintigrafia nuclear da articulação metacarpofalângica (AAEP Proceedings, 2005) - adaptada.....	30
Figura 12 - Cascata do ácido araquidônico (Diagnosis and Management of lameness in the horse, 2003) - adaptada	33
Figura 13 - Exame estático observacional - original	41
Figura 14 - Exame dinâmico de claudicação - original	42
Figura 15 - Bloqueio anestésico intra-articular - original.....	43
Figura 16 - Exame radiológico com as 4 projecções (Dorsopalmar - A, Lateromedial - B, Oblíquas Dorsolatero-palmaromedial - C e Dorsomedio-palmarolateral - D) - original	45
Figura 17 - Algumas etapas do protocolo (do lado esquerdo a infiltração intra-articular e do lado direito a obtenção do ozono) - original.....	46
Figura 18 - 1º caso do estudo - original	47
Figura 19 - 2º caso do estudo - original	49
Figura 20 - 3º caso do estudo - original	51
Figura 21 - 4º caso do estudo - original	53

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Graus de avaliação da claudicação segundo a AAEP (American Association of Equine Practitioners) (Ann. Méd. Vét., 2006) - adaptada	23
Tabela 2 - citologia do fluído sinovial (Diagnosis and Management of lameness in the horse, 2011) - adaptada.....	31
Tabela 3 - AINEs utilizados no tratamento da dor musculoesquelética (Diagnosis and Management of lameness in the horse, 2011) - adaptada	34
Tabela 4 - Suspensões de corticosteróides IA (Diagnosis and Management of lameness in the horse, 2011) - adaptada.....	35
Tabela 5 - Exame dinâmico de claudicação - original	41
Tabela 6 - Exame de claudicação após bloqueios anestésicos perineurais - original	43
Tabela 7 - Exame de claudicação após bloqueio intra-articular do boleto - original	44

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Evolução da claudicação ao longo do protocolo terapêutico - 1º caso.....	48
Gráfico 2 - Evolução da claudicação ao longo do protocolo terapêutico - 2º caso.....	50
Gráfico 3 - Evolução da claudicação ao longo do protocolo terapêutico - 3º caso.....	52
Gráfico 4 - Evolução da claudicação ao longo do protocolo terapêutico - 4º caso.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS

AEPROMO – Associação Espanhola de profissionais médicos de ozonoterapia

AGPI – ácidos gordos poli-insaturados

AH – ácido hialurónico

AINES – anti-inflamatórios não-esteróides

ATP – adenosina trifosfato

BAP – Fosfatase alcalina específica do osso

BSP – sialoproteína óssea

COMP – proteínas oligoméricas da matriz cartilaginosa

COX - cicloxigenase

CP II – Propeptido carboxiterminal do colagénio

CTX – telopéptidos C do colagénio tipo I

dl – decilitro

DLPM – dorso-latero-palamaro-medial

DMPL – dorso-medio-palmaro-lateral

DP – dorsopalmar

DPYR – deoxipiridinolina

EGF – factor epidérmico de crescimento

g - grama

GE – guia para o lado esquerdo

GD – guia para o lado direito

GNR – Guarda Nacional Republicana

G-6-PD – glicose-6-fosfato

HA – Hialuronato de sódio

H₂O₂ – peróxido de hidrogénio

IA – intra-articular

ICTP – fragmentos de telopeptidos de colagénio tipo I

IECA – inibidores da enzima de conversão da angiotensina

IFN – interferão

IL - interleucina

IRAP – proteína antagonista dos receptores da IL 1

IV – intravenosa

Kg – quilograma

KS – sulfato de queratina

LM – latero-medial

LOPs – Produtos de oxidação lipídica

LRPD – linha recta e piso duro
MAD – membro anterior direito
MAE – membro anterior esquerdo
mg - miligrama
ml - mililitro
MMP – metaloproteinases
NADA – New Animal Drug Application
NADP – Fosfato de dinucleótido de nicotinamida adenina
NADPH - Fosfato de dinucleótido de nicotinamida adenina reduzido
NO – óxido nítrico
O₂ – oxigénio
O₃ – ozono
OA - osteoartrite
OCD – osteocondrose
PGE₂ – prostaglandina E₂
PPS – pentosan polifosfato
PRPS – plasma rico em plaquetas
PSGAGs – glicosaminoglicanos polisulfatados
PTs – proteínas totais
ROS – espécies reativas de oxigénio
SPMN – sociedade portuguesa de medicina nuclear
SPozonoterapia – sociedade portuguesa de ozonoterapia
TGF – transforming growth factor
TNF – factor de necrose tumoral
UV - ultravioleta
µg – micrograma
2,3 – DPG – 2,3 difosfoglicerato
3D – três dimensões
4 PB's – 4 pontos baixos
% - percentagem

PARTE I – ESTÁGIO CURRICULAR

Após terminar o percurso académico, realizado integralmente na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, de forma a concluir o mestrado integrado em Medicina Veterinária, foi realizado o estágio curricular.

A área escolhida foi a clínica de Equinos. O estágio foi realizado no 3º Esquadrão da Guarda Nacional Republicana (GNR), sob a orientação da Doutora Capitã Daniela Cristina Teixeira.

Durante o período de estágio, houve oportunidade de assistir e colaborar com todo o trabalho clínico realizado, bem como na ferração e programas de trabalho específicos para cada cavalo, sempre sob a orientação da Doutora Daniela.

As actividades desenvolvidas incluíram a contenção de cavalos e acompanhamento nas consultas de controlo do aparelho locomotor realizadas regularmente, não só a cavalos que apresentassem claudicação ou a recuperar de lesões, mas a todos os outros cavalos do esquadrão por rotina, semanalmente. Estas consultas incluíram exames de claudicação, anestésias nervosas loco-regionais, teste de pinça de cascos, testes de flexão e palpação física de estruturas anatómicas.

Para além dessas actividades de diagnóstico, também se procedeu ao tratamento de animais com lesões ortopédicas, onde se realizaram pensos compressivos, infiltrações intra-articulares, aplicação de bandas de kinesioteape e programação de planos de treino de recuperação específicos.

Foram efectuadas inúmeras monitorizações de equinos em regime de cuidados intensivos, incluindo a realização de exames físicos regulares, de forma a avaliar o seu estado clínico, e também procedimentos terapêuticos tais como administrações enterais e parenterais, entubações naso-gástricas e palpações rectais;

Diariamente, logo de manhã, realizavam-se algumas actividades de rotina como a limpeza e desinfecção de feridas e mudança de pensos.

Uma das práticas correntes deste estágio foi a realização e interpretação de dados obtidos a partir de exames complementares de diagnóstico: radiografias e ecografias abdominais, das extremidades distais e da coluna vertebral, análises bioquímicas, hemogramas, leucogramas, urianálises e análise de líquidos sinoviais.

Também houve oportunidade de assistir e acompanhar algum trabalho de ferração, como aprender a casquear um cavalo de forma equilibrada, adaptar vários tipos de ferração ortopédica associada a lesões ou defeitos de locomoção ou aprumo específicos.

A área de dentisteria foi bastante explorada, onde se realizaram várias regularizações da mesa dentária e ainda extracções de dentes.

Na área de cirurgia, assistiu-se a uma artroscopia, onde se pode acompanhar todo o procedimento cirúrgico desde a indução anestésica.

Durante o estágio curricular foi desenvolvido o estudo no âmbito da dissertação de mestrado, cujo tema foi “Ozonoterapia intra-articular em boletos de cavalos com osteoartrite: quais os seus efeitos melhoradores da patologia?”.

A maioria da casuística deste estágio envolveu o aparelho músculo-esquelético, surgindo com maior frequência lesões tendinosas e ligamentosas seguidas de patologias de casco. Também surgiram frequentemente casos clínicos de origem digestiva, como enterites e cólicas por impactação ou timpanismo.

Após o estágio curricular, foram acompanhadas as actividades do Dr. Manuel Lamas, na área clínica de equinos, muito semelhantes às realizadas no 3º Esquadrão da GNR.

A Osteoartrite (OA) é uma afecção cuja patogenia ainda não está totalmente bem definida. São vários os problemas articulares que, quando são graves ou incorrectamente tratados, podem potencialmente causar uma OA (Lipowitz, 1998). Esta afecção acomete muitas espécies de animais, sendo até observada em fósseis de dinossauros. A doença é também considerada a mais comum das afecções articulares crónicas em humanos (Piermattei & Flo, 1999).

Segundo Toddhunter (1992) a inutilização funcional do cavalo deve-se, na maioria dos casos, à OA, sendo esta a principal causa de claudicação.

Em 1938, a OA em equinos foi documentada, por Kelser e Callender, como uma afecção baseada na avaliação comparativa das alterações patológicas observadas entre humanos e cavalos. Em 1962, foi revista por Mackay – Smith, recebendo a sua primeira atenção clínica por parte da American Association of Equine Practitioners (AAEP) em 1966, com a apresentação da fisiopatologia da doença degenerativa articular e claudicação em equinos pelos seus pioneiros clínicos (Raker CW, Baker RH, Wheat JD, 1966).

Hoje em dia, a OA em equinos é considerada como um grupo de alterações com uma consequência comum, a deterioração progressiva da cartilagem articular, conjuntamente com alterações do osso e tecidos moles articulares (Cruz H, 2014; Rocha F, 2008).

O cavalo tem sido alvo de selecção genética desde há muito tempo, sendo os melhores atletas das várias modalidades equestres os mais intervenientes na reprodução. Sendo esta na maioria das situações controlada pelo homem, o interesse demonstra-se pela selecção e criação de campeões, de exemplares com cada vez melhores performances desportivas, muitas vezes destoando da saúde e integridade física, como factores importantes na selecção. Contudo, seria lógico que um cavalo com saúde e boa integridade física deveria ter melhores probabilidades de ser um bom atleta, o que realmente é uma verdade, mas que nem sempre é tão linear. Foi através da criação e desenvolvimento de terapêuticas, sobretudo as indicadas para problemas ortopédicos, que se conseguiu obter campeões de cavalos com limitações físicas e prolongar a sua carreira desportiva (Equigerminal, 2014).

Sendo a OA a afecção ortopédica mais comum na espécie equina, o tratamento desta tem sido alvo de estudo e melhoramento ao longo das últimas décadas (Cruz H, 2014).

Sendo a Ozonoterapia uma das mais recentes alternativas, mas que ainda não está bem documentada para o tratamento de OA nesta espécie (Bocci V, 2011).

O primeiro relato de aplicação médica do ozono foi durante a 1ª Guerra Mundial, em que se utilizava este gás para o tratamento da gangrena pós-traumática em soldados alemães.

Actualmente, o uso do ozono médico é prático comum em quase todas as áreas da medicina, incluindo a ortopedia, com aplicações intra-articulares e intra-discais (Brandão F, 2015; Bocci V, 2005).

Esta tese de mestrado inclui uma revisão teórica de OA equina, de Ozonoterapia e ainda um estudo realizado durante o estágio curricular, cujo tema é: Ozonoterapia intra-articular em equinos com osteoartrite e os efeitos melhoradores da patologia.

1. OZONO

1.1 História da ozonoterapia

O ozono, como agente medicinal, foi descoberto por Christian Friedrich Schonbein (1799-1868) em 1840, durante um dos seus trabalhos. Enquanto manipulava uma pilha voltaica na presença de oxigénio, notou a presença de um gás com um cheiro peculiar, que considerou ser uma espécie de "oxigénio super-ativo" (Bocci V, 2005; Brandão F, 2015).

O primeiro relato de aplicação médica do ozono gasoso foi durante a 1ª Guerra Mundial (1914-1919), em que se utilizava este gás para o tratamento da gangrena pós-traumática em soldados alemães. No entanto, foi o físico Joachim Hansler (1908-1981) que inventou o primeiro ozonizador confiável para uso medicinal (Schwartz A & Sánchez GM, 2012).

A ideia que impulsionou a utilização do ozono na medicina desenvolveu-se lentamente durante o século XX, muito baseada nas suas propriedades desinfectantes, como alternativa na luta contra bactérias resistentes aos antibióticos disponíveis (Bocci, 2005).

Actualmente, o uso do ozono médico tem vindo a alastrar-se a quase todas as áreas da medicina, com especial incidência na dermatologia, na revolução do tratamento da gangrena nas extremidades cutâneas como o “pé diabético”; na ortopedia, com aplicações intra-articulares e intra-discais; na dentisteria, nas restaurações de canais e no combate à infecção oral; nas doenças degenerativas como o Alzheimer, Parkinson; na oncologia, entre outras áreas (Sociedade Portuguesa de Ozonoterapia [SPozonoterapia], 2015).

1.2 Produção e concentração de ozono medicinal

O ozono é uma molécula gasosa, extremamente instável, constituída por três átomos de oxigénio (Bocci V, 2005). O ozono médico é uma mistura de oxigénio/ozono puro em gás, numa concentração de ozono entre 1 a 100µg/ml (0,05% a 5% do volume da mistura) (Viebahn-Haensler, 2002).

O ozono (O₃) obtém-se a partir de moléculas de oxigénio (O₂), que são sujeitas a radiações ultravioleta (UV), promovendo a sua dissociação e conferindo-lhes carga suficiente para que se juntem em moléculas de O₃. O ozono é muito instável em condições atmosféricas normais, pelo que tem que ser produzido imediatamente antes da sua utilização (Viebahn-Haensler, 2002).

Um gerador de ozono deve ser seguro, atóxico e construído com materiais resistentes à oxidação do ozono, como inox, aço inoxidável e vidro (Bocci V, 2005; Schwartz A & Sánchez GM, 2012). O gerador é alimentado com oxigénio puro, por um bucal de alimentação. Não se pode usar o ar como fonte de alimentação, uma vez que contém em média 78% de

azoto, o que implicaria que a mistura de gás final contivesse uma quantidade variável de óxido nítrico, que é altamente tóxico (Bocci V, 2005).

O ozono pode ser recolhido a uma pressão ligeiramente positiva, através de um filtro hidrofóbico ozono-resistente com uma porosidade de 0,2micron., para seringas de polipropileno e/ou silicone (Brandão F, 2015).

Os geradores modernos permitem regular a concentração (Figura 1), sendo a dose total de ozono equivalente ao volume de gás (ml) multiplicado pela concentração de ozono ($\mu\text{g/ml}$) como em qualquer outro fármaco. Por exemplo, se usarmos um volume equivalente a 10ml, e uma concentração de 20 $\mu\text{g/ml}$, a dose total é $10 \times 20 = 200\mu\text{g}$ ou 0,2mg (Bocci V, 2005).

Figura 1 - Painel digital de gerador de ozono - original



1.3 Acções biológicas do ozono

O ozono possui várias acções biológicas e inúmeras propriedades terapêuticas (Bocci V, 2005).

Vários dos mecanismos de acção do ozono estão directamente relacionados com produtos gerados pela sua interacção com os componentes orgânicos presentes no plasma e membranas celulares, sendo esses produtos, em doses controladas, responsáveis por uma vasta série de propriedades terapêuticas (Figura 2) (Garcia et al, 2014; Brandão F, 2015; Schwartz A & Sánchez GM, 2012).

Figura 2 - Propriedades terapêuticas do ozono (Garcia et al., 2014) - adaptada



1.4 Mecanismo de acção do ozono

O ozono é um potente oxidante, pelo que reage imediatamente com os antioxidantes, as proteínas e com os ácidos gordos poli-insaturados (AGPIs) presentes nos fluidos biológicos, tendo uma afinidade especial para oxidar ligações duplas isoladas, como nos fosfolípidos das membranas celulares (Bocci V, 2005; Viebahn-Haensler, 2002).

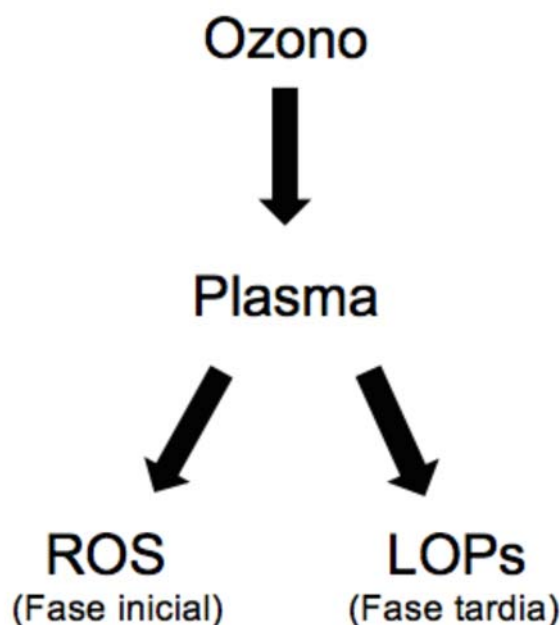
O mecanismo de acção do ozono com as várias moléculas implica duas etapas fundamentais:

"A reacção inicial do ozono ", em que uma pequena quantidade de ozono é inevitavelmente consumida durante a oxidação dos ácidos ascórbico e úrico e os grupos sulfídrico de proteínas e glicoproteínas, formando-se ROS (espécies reactivas de oxigénio), as quais são neutralizadas em 30 a 60 segundos pelos mecanismos antioxidantes (Brandão F, 2015; Schwartz A & Sánchez GM, 2012).

Na segunda reacção, denominada por "peroxidação lipídica", ocorre a produção de produtos da oxidação lipídica (LOP's), como o peróxido de hidrogénio (H₂O₂), a partir da reacção do ozono com o ácido araquidónico presente nos triglicéridos, em ambiente hidrófilo (Bocci V, 2005). Este peróxido de hidrogénio é um oxidante geralmente incluído na família ROS (Bocci V, 2005). Grande parte do ozono é consumida pelos antioxidantes plasmáticos, sendo apenas a segunda reacção a responsável pelos seus efeitos biológicos e terapêuticos (Bocci V, 2005).

Os ROS são produzidos numa fase inicial e rápida, quando o sangue contacta com o ozono, originando efeitos biológicos precoces, enquanto os LOPs, que são produzidos simultaneamente, têm uma semi-vida mais longa e são responsáveis por efeitos biológicos tardios (Brandão F, 2015; Schwartz A & Sánchez GM, 2012) (Figura 3).

Figura 3 - Esquema representativo da formação de ROS e LOPs (Viebhan-Haensler, 2002) - adaptada



Os ROS e os LOPs são potencialmente citotóxicos. Contudo, ocorre a sua neutralização, executada pelos antioxidantes plasmáticos e celulares, desde que as suas concentrações não sobrecarreguem a capacidade antioxidante (Bocci V, 2005).

Estas concentrações são controláveis, como já foi referido anteriormente, se utilizarmos os geradores modernos, possibilitando-nos a utilização de quantidades de ozono adequadas ao volume de sangue e capacidade antioxidante, que nos permite alcançar um vasto conjunto de efeitos biológicos desejáveis. (Bocci V, 2005). Pode parecer estranho como é que compostos tóxicos podem exercer efeitos biológicos terapêuticos, pelo que Bocci (2005) propôs examinar a farmacodinâmica do peróxido de hidrogénio, que é o mais importante LOP derivado do ozono. Verificou que, assim que o ozono se dissolve na água plasmática e reage com AGPIs, a concentração de peróxido de hidrogénio aumenta, mas, com a mesma rapidez, diminui, ao difundir-se rapidamente nos eritrócitos, leucócitos e plaquetas, onde irá desencadear várias vias bioquímicas (Bocci V, 2005).

Este aumento da concentração do péroxido de hidrogénio não se torna tóxico, porque rapidamente sofre redução pela água existente no plasma e pela água intracelular, acção esta mediada por enzimas antioxidantes, tais como a catalase, glutatião peroxidase, glutatião redutase e superóxido dismutase (Bocci, 2005; Brandão F, 2015).

A superóxido dismutase provoca a quebra dos radicais superóxidos em excesso, a catalase e a glutatião peroxidase quebram os peróxidos orgânicos como o peróxido de hidrogénio (Bocci V, 2005).

Esta acção enzimática constitui uma fase de stress oxidativo agudo e transitório, necessário para a activação biológica das células, sem toxicidade concomitante (Bocci V, 2005). O

peróxido de hidrogénio é agora amplamente reconhecido como uma molécula de sinalização intracelular que promove a activação de uma tirosina-quinase, que vai fosforilar um factor de transcrição nuclear, permitindo a síntese de diferentes proteínas (Bocci V, 2005).

Nos eritrócitos, os ROS são quase imediatamente reduzidos (o peróxido de hidrogénio em água e os lipoperóxidos em hidroperóxidos) por acção da glutatíon redutase, que utiliza o fosfato do dinucleótido de nicotinamida-adenina reduzido (NADPH), um dador de electrões para várias reacções bioquímicas, para reciclar a glutatíon oxidada na forma original de glutatíon redutase. O fosfato do dinucleótido de nicotinamida-adenina (NADP) oxidado é reduzido depois da activação da via das pentoses fosfato, dos quais a desidrogenase de glicose-6-fosfato (G-6-PD) é a enzima chave. Assim, a glicólise é acelerada com um consequente aumento dos níveis de trifosfato de adenosina (ATP) (Schwartz A & Sánchez GM, 2012). A manutenção e regeneração do sistema glutatíon acompanha um aumento da G-6-PD, o que resulta numa activação da pentose fosfato e um aumento do metabolismo na célula vermelha no geral (Viebahn-Haensler, 2002). Os eritrócitos, por um breve período, intensificam o fornecimento de oxigénio para os tecidos, devido a um desvio para a direita na curva de dissociação da oxi-hemoglobina e/ou devido a uma ligeira diminuição do pH intracelular (efeito de Bohr) e/ou um aumento dos níveis de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) (Bocci, 2005; Viebahn-Haensler, 2002; Schwartz A & Sánchez GM, 2012).

A 2,3-DPG é um inibidor directo da afinidade da hemoglobina para oxigénio, logo, vai ter um papel importante na funcionalidade dos eritrócitos na libertação de oxigénio (Schwartz A & Sánchez GM, 2012). O oxigénio vai ser libertado de forma mais fácil, o que resulta num melhor aporte de oxigénio para os tecidos. Se a libertação de oxigénio é afectada por uma redução de 2,3-DPG, por ser muito baixa, ou flutuante, como ocorre na diabetes, a aplicação de ozono, aqui, funciona como uma “re-funcionalização” da célula vermelha, e consequente melhor aporte de oxigénio aos tecidos (Viebahn-Haensler, 2002).

A enorme quantidade de eritrócitos pode facilmente absorver o peróxido de hidrogénio e em cerca de 15 minutos, reciclar antioxidantes oxidados em formas reduzidas, restabelecendo o equilíbrio redox do sangue ozonizado (Bocci V, 2005).

Os LOPs podem atingir qualquer órgão, principalmente a medula óssea, onde provocam a adaptação ao stress oxidativo agudo repetido, que é a marca da auto-hemoterapia maior (AHTM). Após a terapia completa, a actividade dos LOPs culminará com a regulação positiva de enzimas antioxidantes, aparecimento de proteínas de stress oxidativo e libertação de células-tronco, representando factores cruciais que explicam alguns dos efeitos da ozonoterapia (Bocci V, 2005).

Os LOPs podem também influenciar a linhagem eritroblástica, permitindo a produção de eritrócitos com melhorados bioquimicamente (Schwartz A & Sánchez GM, 2012). Os fosfolípidos eritrocitários são divididos e convertidos em hidroxiperóxidos intracelularmente,

através da reacção específica do ozono com a dupla ligação dos AGPIs. Estes eritrócitos *supergifted*, devido a um maior teor de 2,3-DPG e enzimas antioxidantes, são capazes de fornecer mais oxigénio aos tecidos, como referido anteriormente. Ao longo da repetição de tratamentos, obviamente dependendo do volume e da concentração de ozono, vai ocorrer um aumento de cerca de 0,8%, da *pool* de eritrócitos *supergifted*, que entram diariamente em circulação e que gradualmente vão substituindo os eritrócitos gerados antes da terapia (Bocci V, 2005).

O processo de activação das células é extremamente dinâmico e não dura eternamente, uma vez que as células sanguíneas têm um tempo de semi-vida em média de 7 dias, e uma memória bioquímica limitada; portanto, para que os efeitos terapêuticos sejam mantidos, são necessários tratamentos com a frequência adaptada a cada situação (Bocci V, 2005).

Além dos efeitos já mencionados, os LOPs também estimulam a síntese de proteínas e libertação de citocinas e factores de crescimento através da activação do mRNA do núcleo das células mononucleares (Viebahn-Haensler, 2002). As principais citocinas induzidas pelo ozono são os interferons (IFN- α , IFN- β e IFN- γ), as interleucinas (IL-1,2,4,6,8 e 10), o TGF- α , os CSFs, o TGF- β 1, o EGF e o TNF- α (Viebahn-Haensler, 2002).

Com o aumento na concentração de ozono, aumenta a libertação de citocinas. No entanto, na concentração de 80 μ g/ml foi encontrada hemólise, pelo que esta concentração é apenas utilizada para efeito desinfectante em aplicações tópicas (Viebahn-Haensler, 2002).

O ozono também induz a activação de enzimas antioxidantes que assumem uma função benéfica contra situações degenerativas em que ocorre sobreprodução de peróxidos e radicais de oxigénio como o caso de afecções crónicas e doenças degenerativas (Viebahn-Haensler, 2002).

1.5 Toxicidade

A toxicidade do ozono difere da toxicidade dos ROS endógenos, uma vez que o ozono médico é ocasional e pode ser controlado, enquanto a formação de ROS endógenos continua permanente ao longo da vida (Bocci V, 2005). Um ser humano de 70 kg produz aproximadamente 0,147 moles ou 5 g/dia de superóxido, enquanto uma auto-hemoterapia utiliza, no máximo, 20 mg de ozono, o equivalente a menos do que 0,4% da produção diária mínima de superóxido (Bocci V, 2005).

Por outro lado, o ozono actua sobre o plasma, que é extremamente rico em antioxidantes e funciona como uma defesa essencial contra o oxigénio (Bocci V, 2005).

Aplica-se ao ozono o conceito válido para qualquer molécula, que consiste em ser a dose correcta que diferencia entre um agente terapêutico e um agente tóxico (Bocci V, 2005).

Quanto maior é a capacidade antioxidante dos fluídos biológicos, menor é a possibilidade de ocorrerem danos oxidativos. Desta forma, o ozono é um agente tóxico para os pulmões,

uma vez que os fluidos do tracto respiratório são apenas uma camada de película aquosa que é facilmente afectada por substâncias oxidantes, não contendo propriedades suficientes para o neutralizar (Bocci V, 2005; Schwartz A & Sánchez GM, 2012).

Para evitar o contacto do ozono com o epitélio pulmonar durante os tratamentos, este não deve escapar do circuito de produção, que deve estar bem isolado, e o excesso deve ser convertido novamente em oxigénio através de um destructor (Viebahn-Haensler, 2002).

1.6 Contraindicações

É importante conhecer as contraindicações, de forma a minimizar falhas terapêuticas e efeitos secundários. Deve ser evitada a ozonoterapia em pacientes gestantes, particularmente na fase inicial, para excluir qualquer risco mutagénico, embora seja improvável (Bocci V, 2005).

Os doentes tratados com inibidores da enzima de conversão de angiotensina (IECAs) e suplementados com Vitamina, E, C e selénio também não devem ser submetidos à ozonoterapia (Bocci V, 2005).

Situações anómalas, tais como trombocitopénia, instabilidade cardiovascular grave, hipertiroidismo descontrolado e favismo (síndrome hemolítico por deficiência em G-6-PD) também apresentam contraindicações (Viebahn-Haensler, 2002).

1.7 Aplicações em Medicina Veterinária

O ozono médico pode ser aplicado de forma local ou parenteral. As diversas formas de aplicação do ozono podem ser usadas isoladamente ou em combinação, com o objectivo de exercer um efeito sinérgico (Associação Espanhola de Profissionais Médicos de Ozonoterapia [AEPRIMO], 2010).

Existem inúmeras formas de aplicação do Ozono com o intuito terapêutico:

- Insuflação Rectal: a concentração utilizada varia consoante o stress oxidativo do paciente, que quanto maior for, menor deverá ser a dose a utilizar, e a patologia a tratar. Esta via de aplicação está indicada para muitas patologias. Alguns exemplos das mesmas, com interesse na área clínica de equinos, são as mialgias, anemias, alergias, enterites, problemas dermatológicos e ortopédicos (SPozonoterapia, 2015).
- Insuflação vaginal: esta via de administração é extremamente útil no tratamento de candidíase, vaginite, exantema do coito e metrite (SPozonoterapia, 2015).
- Autohemoterapia: concentrações demasiado elevadas (>80 µg/ml) nesta via de aplicação podem causar hemólise. O número de sessões e dose utilizada depende da patologia a tratar, idade e estado geral do paciente. Está indicada em inúmeras patologias, semelhantes às descritas na insuflação rectal (AEPRIMO, 2010).

- Infiltração paravertebral: em 2005, Ballardini efectuou um estudo de aplicação de ozono paravertebral em cavalos que manifestavam dor na região toraco-lombar. Todos os cavalos demonstraram melhorias na locomoção, visíveis sobretudo no trote, tendo em conta que o estudo foi feito em “trotadores franceses” e que melhoraram significativamente as suas performances. A tensão e rigidez à palpação dos músculos das costas desapareceu (SPozonterapia, 2015).

Figura 4 - Infiltração paravertebral de Ozono (Ballardini E, 2005) - adaptada



- Infiltração intra-articular: na Medicina Humana está descrito e comprovado como uma alternativa eficaz no tratamento de patologias articulares, sendo que na Medicina veterinária também tem vindo a aplicar-se cada vez mais e com resultados bastante satisfatórios, especialmente no tratamento de artrites sépticas. A concentração e dose variam consoante a articulação (Citizen's Council for Truth in Medicine, 2005).

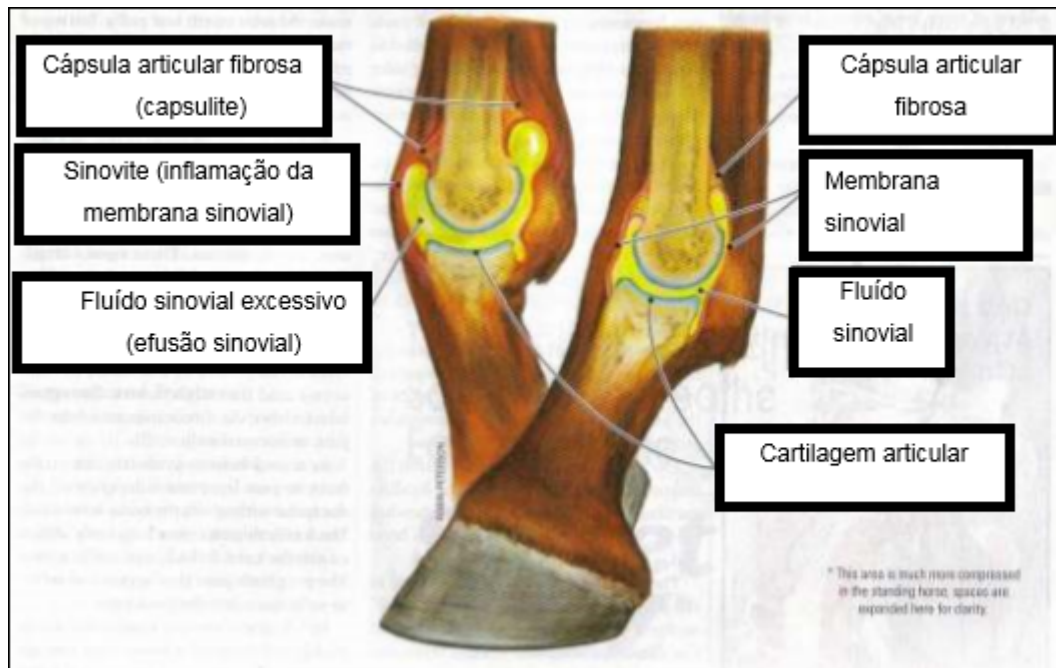
- Infiltração intra-discal: utilizado sobretudo em situações de hérnias discais, como alternativa ao uso de corticosteróides e à cirurgia. (Buric J, Rigobello L & Hooper D, 2014). Foi efectuado um estudo em 2007, em cães com hérnias discais e com manifestação clínica de paraparésia ou paraplegia, nos quais se aplicou ozono intra-discal. Verificou-se a redução da hérnia a partir das cinco semanas após o início do protocolo terapêutico, confirmada por Tomografia Computorizada. Todos os cães manifestaram melhorias na locomoção, recuperando a capacidade ambulatoria de forma variável entre cada animal, mas com um período médio de 5,75 dias após a administração (Han HJ et al., 2007).

- Aplicações tópicas (Bolsa saturada com ozono, cremes, água, soro e azeite ozonizados): extremamente eficaz no tratamento de feridas, ao acelerar a cicatrização e combater as infecções (Brandão F, 2015; Schwartz A & Sánchez GM, 2012).

2. ARTICULAÇÃO

A articulação é uma estrutura composta por uma cápsula articular na qual está contido o líquido sinovial, cartilagem articular e osso subcondral, com uma circulação sanguínea local e inervação que, em conjunto, contribuem para manter a homeostasia (Palmer J, Bertone AL, 1994). Em 2004, Bertone defendeu que o tecido articular se adapta, através de respostas fisiológicas, à magnitude e frequência de determinada carga que ocorre naturalmente durante o exercício, sem que haja necessariamente compromisso patológico.

Figura 5 - Estrutura anatômica da articulação do cavalo (Rocha F, 2008) - adaptada



2.1 Membrana sinovial

A membrana sinovial é um tecido conjuntivo vascularizado que reveste a superfície interna da cápsula articular e é constituída por células da íntima sinovial e do estroma sub-sinovial (subíntima). A íntima sinovial é responsável pela produção do líquido sinovial, enquanto a subíntima é constituída por tecido conjuntivo fibroso e adiposo (Rocha F, 2008).

A região sub-sinovial possui um fornecimento sanguíneo muito rico, que é essencial para a produção de líquido sinovial, facilitando as trocas de nutrientes e a eliminação dos resíduos metabólicos da membrana sinovial, e constituindo a única fonte de nutrição da cartilagem articular adulta. A circulação sanguínea sinovial está sujeita a um complexo sistema regulador, através de um controle extrínseco e de um controle intrínseco representado pela angiotensina II, endotelina 1 e óxido nítrico (Sledge CB et al, 2001).

A membrana sinovial reveste todas as superfícies articulares, excepto a cartilagem articular e zonas específicas de osso. Porém, a membrana sinovial não se apresenta de forma

inteiramente uniforme por toda a articulação, pois existe um tecido mais denso de conexão que pode ser encontrado no seu lugar, em zonas predispostas ao trauma (Rocha F, 2008).

A íntima sinovial é revestida por uma população de sinoviócitos, os quais foram classificados em três tipos, de acordo com a sua ultra-estrutura e com o uso de um anti-soro específico (Bassleer R, Lhost – Ganthier MP, Renard AMP, et al, 1982; Stevens CR, Mapp PI, Revell PA, 1990).

- Os Sinoviócitos tipo A (representam 10-20% das células de revestimento), com características semelhantes às dos macrófagos, são responsáveis pela fagocitose de partículas indesejadas na articulação.
- Os Sinoviócitos tipo B são as mais abundantes e têm como principal função produzir componentes que intervêm no metabolismo da articulação, como por exemplo, o ácido hialurônico (AH), a lubricina, citocinas, colagênio, Prostaglandina E2 (PG E2) e metaloproteinases (MMPs).
- Os sinoviócitos tipo C parecem ser intermediárias entre as formas celulares A e B

(Ghadially FN, Roy S, 1969; Wilkinson LS et al, 1992).

Os sinovócitos também sintetizam uma variedade de mediadores inflamatórios solúveis implicados no processo patogénico da OA, tais como as citocinas (interleucina-1) eicosanóides (PG E2) e proteinases). A capacidade que o revestimento sinovial tem em sintetizar estas substâncias confere um importante papel à membrana sinovial na patogenia da OA (Martel-Pelletier J et al, 1986).

2.2 Líquido sinovial

O líquido sinovial é constituído por água, sais minerais, AH e lubricina e tem como principais funções a lubrificação e nutrição da articulação (Lipowitz A, 1985; Rocha F, 2008).

A viscosidade do fluido sinovial deve-se, em grande parte, à concentração e ao grau de polimerização do AH. Em situações de sinovite, há efusão articular devido a uma produção excessiva de líquido sinovial, ficando este mais aquoso devido a um distúrbio na produção de AH (Lipowitz A, 1985; Salazar de Oliveira A, 2015; Rocha F, 2008; Teixeira DC, 2011).

2.3 Tecidos moles periarticulares

Os tecidos moles periarticulares incluem os músculos, os tendões, os ligamentos e a cápsula articular. Os músculos determinam movimentos por meio de vias reflexas complexas, são fundamentais para a estabilidade articular e protegem a articulação de movimentos potencialmente prejudiciais (Rocha F, 2008).

Os tendões servem de ligação entre músculos e o osso, enquanto os ligamentos fornecem a estabilidade entre os ossos e as articulações a eles adjacentes. Apesar da estrutura dos tendões e dos ligamentos serem similares, a sua composição não é exactamente idêntica. São principalmente constituídos por água, por feixes de colagénio tipo I e por fibroblastos. Os ligamentos contêm uma maior quantidade de fibras de elastina e têm maior elasticidade que os tendões (Canoso J, 1981).

A cápsula articular tem como principal função fornecer estabilidade (Rocha F, 2008).

2.4 Osso subcondral

Embora o osso subcondral seja histológica e bioquimicamente semelhante ao osso existente noutras zonas, a organização da lâmina subcondral é específica. A lâmina do osso subcondral é mais fina que o osso da cortical encontrado noutras zonas, e os seus sistemas de havers são orientados paralelamente à superfície articular em vez de estarem paralelos ao longo do eixo do osso (Hvid I, 1988; Salazar de Oliveira A, 2015).

2.5 Cartilagem articular

A cartilagem tem como principal função evitar a fricção durante o trabalho mecânico e suporte de peso a que a articulação é sujeita. A cartilagem reveste a lâmina subcondral do osso que compõe a articulação, ao qual adere firmemente numa região denominada placa óssea terminal (Fernandes V, 2011; Rocha F, 2008; Piazza L, Luza M, Libardoni T, Stapai E & Santos G, 2012).

A sua composição inclui água (65% a 80%), colagénio (10% a 30%) e proteoglicanos (5% a 10%). A quantidade de condrócitos representa menos de 2% do seu volume total, na maioria das espécies. A água é livremente trocada com fluido sinovial e é mantida na matriz na forma de gel. Acredita-se que o fluxo de água é fundamental para que a cartilagem tenha a capacidade de lubrificação mas também de absorver e distribuir a carga compressiva.

Nos adultos, a cartilagem é avascular, não possui vasos linfáticos e não é innervada, sendo nutrida pelo fluido sinovial. As lesões restritas à cartilagem não são dolorosas, uma vez que esta não é innervada (Salazar de Oliveira A, 2015; Rocha F, 2008).

A cartilagem é constituída por várias camadas ou zonas:

- Zona superficial ou tangencial: na qual as células são alongadas e orientadas paralelamente à superfície articular;
- Zona intermédia ou de transição: nesta zona as células são arredondadas e estão distribuídas ao acaso;
- Zona profunda ou radial: contém células dispostas em colunas, orientadas perpendicularmente à superfície articular;

- Zona calcificada: é composta por cartilagem mineralizada e condrócitos em várias fases de degeneração.

(Rocha F, 2008)

As propriedades únicas da cartilagem articular são reflectidas pela sua composição química. O seu conteúdo em água varia com a idade mas pode ser superior a 80% (Rocha F, 2008).

2.6 Colagéneo

O colagéneo da cartilagem articular difere do colagéneo encontrado noutras zonas do corpo. Os tipos de colagéneo, fibrilar e não fibrilar, estão presentes na cartilagem articular e servem de suporte estrutural à cartilagem. As fibrilhas de colagéneo estão orientadas paralelamente à superfície articular, na zona superficial, e actuam como uma camada protectora. As fibrilhas situadas nas camadas mais profundas têm como função ancorar a cartilagem à placa óssea terminal (Bruckner P & Van der Rest M, 1994).

O colagéneo tipo II é:

- O mais abundante na cartilagem (cerca de 90% da rede fibrilar);
- Constituído por três cadeias idênticas de aminoácidos, em forma de tripla hélice;
- Menos solúvel e mais glicosado que o colagéneo do tipo I;
- Produzido pelos condrócitos.

(Sledge CB et al, 2001; Mankin HJ & Lipiello L, 1971).

2.7 Proteoglicanos

Os proteoglicanos ocupam os espaços existentes entre as fibras de colagéneo. Apresentam várias formas e são constituídos por um núcleo proteico que se adere a cadeias de glicosaminoglicanos (Salazar de Oliveira A, 2015).

Apresentam-se em agregados, aos quais se chama “aggrecan”. Os principais glicosaminoglicanos na cartilagem adulta são o sulfato de condroitina e o sulfato de queratina. As moléculas de “aggrecan” são unicamente mantidas no seu lugar pela rede de colagéneo. Os proteoglicanos conferem à cartilagem uma rigidez à compressão (McIlwraith CW, 2005). As glicoproteínas não colagéneas e não proteoglicanas, constituem uma pequena mas notável porção da cartilagem articular, incluindo-se nelas as proteínas de ligação, condronectina, fibronectina, proteínas oligoméricas da matriz cartilaginosa (COMP), trombospondin e ancorina CII (Todhunter RJ, 1996).

2.8 Condrócitos

Os condrócitos sintetizam todos os componentes da matriz cartilaginosa. Em cada fase do crescimento, desenvolvimento e maturação, a taxa relativa da síntese e degradação da matriz é ajustada para otimizar o crescimento, a remodelação ou o equilíbrio. Existe uma

interacção única entre os condrócitos e a matriz circundante. Isto pode ser facilitado por um cílio existente em cada condrócito, que se estende para a matriz e age como uma “sonda”, registando as alterações na composição da matriz, tais como a perda de proteoglicanos ou colagénio, ou a diminuição de ácido hialurónico (Poole CA, Flint MH & Beaumont BW, 1995).

2.9 Nutrição

Ao contrário da cartilagem de animais em crescimento, em que há algum fornecimento sanguíneo a nível do osso subcondral, a cartilagem articular do adulto é avascularizada. Os nutrientes migram dos vasos sinoviais para o fluido sinovial, do qual seguem para o tecido conectivo da matriz da cartilagem, enquanto os produtos do metabolismo seguem a via inversa para serem eliminados (McIlwraith CW, 2005; Rocha F, 2008).

2.10 Inervação

A inervação da superfície articular depende do suporte das terminações nervosas da cápsula articular, dos ligamentos, dos músculos e do osso subcondral para a percepção da dor e da propriocepção, isto porque a cartilagem articular não é innervada (McIlwraith, 2005).

2.11 Pressão intra-articular

A pressão intra-articular é normalmente mais baixa que a pressão atmosférica. Durante o movimento articular, naturalmente o fluido sinovial flui do compartimento com maior pressão para o de menor pressão, produzindo um fluxo de líquido sinovial. Este processo promove o fornecimento de nutrientes à cartilagem avascular, lubrifica a cartilagem e mantém a pressão dentro dos parâmetros normais, impedindo assim que esta suba durante o movimento articular. O movimento de fluido da membrana sinovial para o interstício e vasos linfáticos é aumentado com o exercício. O efeito directo do aumento da pressão intra-articular e da acção de bombeamento no interstício e vasos linfáticos leva a reabsorção de fluido. O exercício aumenta a condutância hidráulica do fluido e aumenta a renovação do fluido articular (Bertone AL, 2004; McIlwraith, 2005).

3. OSTEOARTRITE

A OA é uma patologia das articulações, com maior incidência sobretudo nas que são sujeitas a maior mobilidade. Nesta afecção pode haver destruição da cartilagem articular, que pode apresentar fibrilações e fissuras, tal como uma esclerose do osso subcondral e formação de osteófitos marginais (Caron JP, 2011). Em estádios mais graves da afecção, o osso subcondral pode-se encontrar desprovido de cartilagem, ficando em contacto com o interior da articulação, numa superfície extensa. Podem estar presentes lesões da cartilagem sem envolver alterações ósseas, tal como o contrário também é possível. (McIlwraith CW, 2001).

3.1 Classificação da OA

Existem inúmeras formas de classificação da Osteoartrite descritas na literatura, baseadas na etiologia, patogenia, localização e grau de lesão (McIlwraith CW, 1996).

Em 1996, McIlwraith apresentou um modelo de classificação da osteoartrite, dividindo-a em três tipos distintos. Associou o tipo I à sinovite, capsulite e stress mecânico repetitivo, havendo predisposição de algumas articulações, tais como a articulação metacarpofalângica, a articulação metatarsifalângica e as articulações interfalângicas. O tipo II caracteriza-se pela presença de fracturas intra-articulares, traumas, afecções do osso subcondral, lesões quísticas do osso subcondral e artrite séptica. No tipo III temos presente uma erosão progressiva da cartilagem.

3.2 Factores de risco

Existem alguns factores determinantes que predispõem para a ocorrência desta afecção, tais como:

- O Sexo, que, segundo estudos efectuados, existe evidência de maior predisposição das fêmeas para OA em algumas articulações, nomeadamente na articulação interfalângica distal, apesar de não ser totalmente conclusivo. (Geffroy O, Courouge A, Valette JP & Kraft E, 1997; Denoix et al, 1997).
- A Idade, que quanto mais avançada, maior a probabilidade de ocorrência e da gravidade das lesões. (Lejeune JP, Schneider N, Henrotin Y & Serteyn D, 2006).
- O Peso, que se relaciona proporcionalmente com o aumento da carga mecânica a que as articulações estão sujeitas (Piazza L et al., 2012; D. Teixeira, comunicação pessoal, Janeiro, 2017).
- A Raça é determinante na prevalência e localização de OA. Um estudo comparativo entre as raças “trotador francês”, “sela francês” e “anglo-árabe” demonstrou maior predisposição dos “trotadores franceses” para a ocorrência desta afecção (Geffroy et al, 1997).

- O Trauma directo, que está directamente associado à ocorrência de fracturas a nível articular (McIlwraith CW, 2001).
- O Stress mecânico repetitivo, como em cavalos que andam em pisos duros e irregulares, tal como ocorre nos solípedes da Guarda Nacional Republicana (Piazza L et al., 2012; D. Teixeira, comunicação pessoal, Janeiro, 2017).
- A Alimentação, cuja influência no surgimento de lesões ortopédicas, principalmente durante o crescimento, é extremamente evidente. Alguns desequilíbrios, nomeadamente na quantidade de proteína. O equilíbrio mineral, que é extremamente importante em todas as fases do desenvolvimento, havendo, por exemplo, correlação do excesso de Fósforo, do desequilíbrio Cálcio/Fósforo e da carência em Cobre com a ocorrência de OA (Caron JP, 2011).

Também o excesso de carboidratos e energia na dieta, com consequente ocorrência de hiperglicémia e aumento do peso, predispõe para a ocorrência de doenças ortopédicas. (Douglas J, 2011).

3.3 Mecanismo fisiopatológico

Consideram-se três hipóteses de mecanismos patogénicos que podem estar na origem da OA. A primeira hipótese caracteriza-se pela ocorrência de uma cartilagem defeituosa, com alteração das propriedades biomecânicas. Na medicina humana, associa-se esta forma primária de OA a um defeito no colagénio II. Contudo, nos equinos tal ainda não foi comprovado (Caron JP, 2011).

A segunda hipótese da origem patogénica da OA implica alterações no osso subcondral, em consequência do facto da cartilagem articular ser demasiado fina, não tendo uma boa capacidade de absorção de impacto. Nesta situação, os tecidos moles periarticulares e osso subcondral vão ser sujeitos a esforço acrescido na absorção do impacto, o que normalmente até pode causar microfraturas do osso subcondral e trabecular epifisial. Quando estas fracturas ocorrem frequentemente e é ultrapassada a capacidade de cicatrização e remodelação do osso subcondral e trabecular, vai ocorrer um aumento da densidade da placa subcondral e do trabeculado adjacente, com diminuição da capacidade de absorção de cargas. (Caron JP, 2011).

A terceira hipótese de origem patogénica da OA é a mais comum, baseando-se no conceito de que as forças mecânicas podem causar lesão na cartilagem saudável. (Caron JP, 2011). As lesões da matriz provocam uma alteração no metabolismo dos condrócitos, conduzindo à libertação de enzimas proteolíticas, que causam fibrilhação da cartilagem e colapso da rede de proteoglicanos. Apesar das diversas causas, o microtrauma repetido é, provavelmente, a mais comum na origem da OA equina, sendo a correlação de lesões em zonas específicas no cavalo atleta uma forte apoiante desta hipótese (Caron JP, 2011).

3.3.1 Componentes envolvidos

a) Membrana sinovial

A membrana sinovial contribui de forma importante para o processo fisiológico da OA. Várias investigações, realizadas em diferentes espécies, comprovaram que os sinovócitos são uma fonte rica em mediadores inflamatórios e enzimas de degradação que contribuem para a degenerescência da cartilagem, onde se identificam: Prostaglandinas (Bathon JM et al, 1996; Landoni MF et al, 1996; May SA, Hooke RE & Lees P, 1992); Citoquinas (Farahat MN et al, 1993); Metalloproteinases da matriz (MMP) (Pelletier JP et al, 1991; Clegg PD et al, 1997). Investigações recentes sugerem que os macrófagos da membrana sinovial constituem um forte contributo para a inflamação e degradação das articulações afectadas, cujos efeitos são mediados pela IL-1 e a TNF- α . (Caron JP, 2011).

b) Condrócitos

O metabolismo dos condrócitos é determinante para a fisiopatologia da OA. Danos nestes originam alterações da cartilagem articular. Nas articulações saudáveis, os condrócitos são responsáveis pelo equilíbrio entre a degradação da matriz e a sua reparação. Este equilíbrio mantém-se devido às complexas interações entre os condrócitos, citoquinas e o estímulo mecânico (Mankin HJ, Radin EL, 1997; Sledge CB et al 2001; Mankin HJ, Brandt KD, 2001; Poole AR, 1997; Platt D, 1996). Apesar da síntese de proteoglicanos ser superior no início da doença, a taxa de digestão da matriz é suficiente para que resulte na perda da sua rede e, conseqüentemente ocorra também uma perda progressiva da matriz da cartilagem, sendo as propriedades de viscosidade e elasticidade do restante tecido insuficientes para suportar cargas normais. O resultado final é a perda generalizada de cartilagem e remodelação secundária do osso e dos tecidos moles articulares (Caron JP, 2011). A degradação do colagénico acompanha a diminuição do teor de proteoglicanos e manifesta-se por fibrilhação da superfície. A perda de colagénico contribui para o enfraquecimento da matriz, e pode ser responsável pelo aumento do volume de água nas lesões iniciais da cartilagem (Caron JP, 2011; Curtin WA & Reville WJ, 1995; Maroudas A et al, 1985). As enzimas proteolíticas sintetizadas pelos condrócitos são as principais responsáveis pela diminuição da matriz, mas também os radicais livres de oxigénio (Shingu M et al, 1994; Roberts CR, Roughley PJ & Mort JS, 1989), as proteinases sintetizadas pelos condrócitos ou sinovócitos contribuem para a degradação da cartilagem. No entanto, as MMP e enzimas relacionadas são mais activas na OA (Nagase J & Woessner JF Jr, 1993; Little CB et al, 1999).

c) Enzimas responsáveis pela degradação da matriz (MMP's)

As MMP's são um grupo de enzimas que estão envolvidas na degradação patológica da cartilagem articular, tendo um papel extremamente importante na fisiopatologia da OA. A sua presença na cartilagem adulta normal sugere que também têm um papel na manutenção da homeostasia (Chubinskaya S, Kuettner KE & Cole AA, 1999; Bluteau et al, 2001).

As MMP podem ser divididas em quatro grupos (Murphy G, Hembry RM, Huges CE, Fosang AJ & Hardingham TE, 1990):

- Stromelisinases (MMP-3, MMP-10 e MMP-11): degradam uma grande série de substratos;
- Colagenases (MMP-1, MMP-8 e MMP-13): dividem o colagéneo intersticial de tripla hélice;
- Gelatinases (MMP-2 e MMP-9): digerem o colagéneo do tipo II, IX, X, XI.
- MMP do tipo membranário (MMP-14, MMP-15, MMP-16 e MMP-17).

Recentemente, demonstrou-se que algumas enzimas, como a desintegrina, eram expressas pelos condrócitos (Mckie N et al, 1997; Flannery et al, 1999). Algumas enzimas deste grupo vão dividir o “aggrecan”, o que leva ao aparecimento de fragmentos semelhantes aos encontrados nos tecidos e fluido sinovial de animais com OA. Estas proteinases, designadas como “aggrecanases”, são muito idênticas às MMP, uma vez que são inactivadas pelos inibidores da MMP (Arner EC et al, 1999).

d) Mediadores inflamatórios

Citoquinas

Estudos realizados sugerem que a interleucina-1 (IL-1) e o factor de necrose tumoral- α (TNF- α) modelam a síntese de MMP por parte dos condrócitos e células sinoviais (Dayer JM et al, 1986; Wood DD et al, 1985), sendo por isso importantes mediadores na doença articular. O resultado de pesquisas recentes sugere que a IL-1 é a mais importante citocina próinflamatória na OA, sendo esta responsável pela destruição da matriz extracelular e a formação de tecido cicatricial, através da diminuição da síntese de proteoglicanos e de colagéneo tipo II e da promoção da síntese e secreção de enzimas proteolíticas, que provocam a degradação destas macromoléculas da matriz (May SA et al, 1992; Goldring MB et al, 1988). Por outro lado, a IL-1 estimula a produção de PGE2 e óxido nítrico (NO) (Bathon JM et al, 1996; Fream SP et al, 1997). O TNF- α promove o aumento da síntese de MMP e inibe a síntese de proteoglicanos e colagéneo. (Haapala J et al, 2001; Richardson DW e Dodge GR, 2000), estando os níveis de TNF- α no fluido sinovial aumentados em cavalos com artrite, incluindo a doença articular aguda e osteocondrose (OCD) (Trumble TN et al, 2001). A sua presença permite prever a doença articular (Bertone et al, 2001). É menos potente que a IL-1 mas, quando combinados, o seu efeito conjunto é potenciado, pois a TNF- α estimula a síntese de IL-1 (Brennan FM et al, 1989).

Derivados dos radicais livres de Oxigénio

O anião superóxido, radicais de hidroxilo e peróxido de hidrogénio, são libertados de tecidos lesionados. Foi demonstrado, num estudo, que o ácido hialurónico é composto por radicais livres, tal como os proteoglicanos também podem ser (Greenwald R & Moy W, 1979). O óxido nítrico é um importante mediador fisiológico, que se combina com o anião superóxido, dando origem à formação de outros radicais extremamente destrutivos, tais como: o anião peroxinitrito e os radicais de hidroxil (Price JS et al, 1992).

Prostaglandinas

As prostaglandinas encontram-se em concentrações elevadas na articulação inflamada (Hawkins DL et al, 1993). A PGE2 causa inflamação sinovial, contribuindo para a diminuição da matriz da cartilagem e erosão da cartilagem e osso (Tietz CC et al, 1975; Lippiello L et al, 1978). Estas modelam a libertação de metaloproteinases, tais como collagenases e stromelisinases (Steinberg JJ, Hubbard JR & Sledge CB, 1993; Mehindate K et al, 1996).

4. EXAME DE CLAUDICAÇÃO

4.1 História Clínica

A anamnese é fundamental para o médico veterinário, pois permite obter informações que podem ser extremamente úteis para a realização do diagnóstico correcto, tais com a idade, sexo, raça, a actividade do cavalo, a sintomatologia, o tipo de terapêuticas que possam ter sido previamente implementadas, protocolos de ferração, entre outras informações. (Kaneps AJ 2004; Ross MW, 2011).

4.2 Exame estático

Este procedimento, incluído no exame de claudicação, traduz-se pela observação do cavalo à distância, com o objectivo de detectar possíveis alterações na postura, avaliar a conformação corporal, identificar assimetrias (atrofias/hipertrofias), avaliar a conformação do casco e ângulo de ferração. Posteriormente, procede-se à visualização ao perto do membro, o que implica a palpação de todas as estruturas que o compõe no sentido distal/proximal. Caso existam alterações, como espessamentos, efusões articulares, aumentos da sensibilidade e temperatura de zonas específicas, feridas, entre outras alterações de uma zona do membro, o exame deverá incidir especial atenção nessa zona, realizando-se uma palpação profunda para avaliar a temperatura dos tecidos circundantes, bem como a sua sensibilidade ao toque. O pulso digital de cada membro deve ser sempre avaliado ao nível dos ossos sesamóides proximais e, caso esteja aumentado, pode ser indicativo de lesão ou inflamação. A palpação dos tendões e ligamentos deverá ser executada com o membro na sua posição normal para examinar possíveis efusões nas bainhas tendinosas, e com o

membro flectido por serem mais facilmente separados e definidos ao nível da região palmar/plantar. (Kaneps AJ, 2004; Ross MW & McIlwraith CW, 2011).

4.3 Exame dinâmico

Neste exame, o cavalo deverá ser observado inicialmente sobre uma superfície dura, a passo e a trote em linha recta e posteriormente a trote em círculo com um diâmetro variável, no máximo de 20 metros. Este tipo de exame permite caracterizar a natureza e intensidade do andamento que pode ser anormal e classificá-lo de acordo com uma escala que traduz os graus de claudicação (Kaneps AJ, 2004; Ross MW, 2011).

Tabela 1 - Graus de avaliação da claudicação segundo a AAEP (American Association of Equine Practitioners) (Ann. Méd. Vét., 2006) - adaptada

Grau de avaliação da claudicação	
0	Imperceptível em qualquer situação
1	Difícil de observar e não é consistente. Não se observa a passo
2	Visível no trote, mas muito ligeira em linha recta
3	Com marcada assimetria no trote em todas as circunstâncias
4	Visível a passo
5	Supressão de apoio óbvio. O cavalo não quer andar.

4.4 Manipulação do casco

Este exame é efectuado com o auxílio de uma pinça de cascos que permite aplicar pontos de pressão em zonas específicas do casco que caso estejam com sensibilidade aumentada, vão exibir dor aquando a aplicação da pinça. Não é um exame de elevada objectividade, tendo em conta que a sensibilidade e resistência à dor é extremamente variável entre diferentes cavalos e pelo facto de ser impossível controlar de forma precisa a pressão exercida pela pinça manipulada pelo médico veterinário. Quando há manifestação de sensibilidade aumentada, deverá ser exercida uma pressão com a duração de 30 segundos sobre a região do casco que se mostrou sensível e o cavalo deverá sair de imediato a trote para verificar se a pressão aumentou a claudicação (Kaneps AJ, 2004; Ross MW, 2011).

4.5 Testes de flexão

Estes testes têm como objectivo exercer pressão sobre uma determinada região anatómica do membro durante um certo período de tempo, devendo, o cavalo sair de imediato a trote. Cada teste de flexão deverá ser feito inicialmente no membro que se apresenta são, passando de seguida para o membro afectado pela claudicação (Cruz H, 2014). As articulações deverão ser flectidas aos pares, isto é, quando flectida uma articulação num

membro, a flexão no membro contra-lateral deverá corresponder à mesma articulação. Os testes de flexão deverão progredir no sentido distal/proximal para que os resultados sejam consistentes. Durante o exame, o cavalo pode manifestar dor com diferentes tolerâncias à flexão e pressão exercida pelo médico veterinário, que pode exercer uma flexão activa ou passiva. Pode-se verificar crepitação durante a flexão e diminuição da mobilidade articular. (Kaneps AJ, 2004; Ross MW, 2011). Os resultados destes testes podem ser interpretados como:

- Negativos: não foram verificadas alterações na claudicação;
- Ligeiramente positivos: é notado um ligeiro aumento da claudicação logo após a flexão e na saída a trote;
- Moderadamente positivos: é verificado um aumento da claudicação no percurso de afastamento em relação ao clínico, mas no percurso de volta não existe qualquer exibição de sintomas de claudicação;
- Gravemente positivos: exhibe um marcado aumento da claudicação tanto no percurso de ida como de volta.

(Ferrari PA, Pacheco MD & Montanha FP, 2011)

4.6 Anestésias loco-regionais

A anestesia local de nervos (bloqueio nervoso) é efectuada com o objectivo de localizar a estrutura ou estruturas que estão na origem da claudicação. São utilizados anestésicos locais (Mepivacaina ou Lidocaína) que provocam o bloqueio dos canais de cálcio, inibindo a condução nervosa. O protocolo inclui restritas medidas de assépsia, bem como a administração do anestésico nos nervos a nível do membro distal e progredindo no sentido proximal até que se verifique uma melhoria na claudicação e sejam localizadas a estrutura ou estruturas envolvidas na claudicação. Se a melhoria da claudicação for conclusiva, deverá proceder-se à anestesia intra-articular da articulação suspeita. (McIlwraith CW, 2002). Feito o exame clínico, o médico veterinário dispõe de uma variedade de meios de diagnóstico que são descritos a seguir (Kaneps AJ, 2004; Bassage LH & Ross MW, 2011).

5. MEIOS DE DIAGNÓSTICO COMPLEMENTARES

5.1 Radiologia

O Raio X (Rx) é o exame complementar mais utilizado para identificar lesões radiologicamente visíveis. As anomalias radiológicas que podem ser observadas num quadro de OA são:

- Osteófitos;
- Esclerose do osso subcondral;

- Perda do aspecto e estrutura trabecular do osso;
- Diminuição do espaço articular;
- Distensão da cápsula articular;
- Edema dos tecidos periarticulares.

(Butler JA, Colles CM, Dyson SJ, Hold SE & Poulos PW, 1993; McIlwraith CW, 1996; Dyson, 2003).

Os enteseófitos são neoformações ósseas ao nível das inserções tendinosas, ligamentares ou capsulares, que normalmente são originadas por um stress mecânico repetitivo aplicado nessas estruturas. A sua presença não implica forçosamente que exista OA. No entanto, sugere uma instabilidade articular que predispõe futuramente ao surgimento de OA (Dyson, 2003). O Rx permite uma avaliação das várias estruturas da articulação devido ao uso de planos de angulação articular, o uso de diferentes planos de incidência do feixe radiográfico e a variação dos parâmetros de densidade e contraste que permite uma melhor avaliação das diferentes estruturas anatómicas. Com o Raio-X computadorizado e digital ocorre uma melhoria na diferenciação dos tecidos moles (Roberts GD & Graham JP, 2001). Apesar do desenvolvimento de novos métodos de imagiologia, o Rx continua a ser essencial na gestão do cavalo de desporto (Rocha F, 2008; Teixeira DC, 2011).

Figura 6 - Imagem radiográfica. Vista latero-medial (LM) da extremidade distal. Evidência de OA da articulação metacarpo-falângica (boleto): efusão articular, osteófitos (setas) e esclerose subcondral da Falange proximal.
(Weller R & Sinclair C, 2013) - adaptada



5.2 Ecografia

A ecografia é um procedimento imagiológico eficaz na exploração dos tecidos intra e periarticulares, que fornece informações sobre as alterações patológicas da membrana sinovial, da cápsula articular, dos ligamentos articulares e periarticulares e da cartilagem mais próxima do osso subcondral (Denoix, 1996; McIlwraith CW, 1996; Redding, 2001) (Figura 4). Através da ecografia podem ser observadas as modificações de detalhe, de ecogenecidade e arquitetura das estruturas, o que permite colocar em evidência uma degenerescência inicial da cartilagem articular superficial, bem como a medição da espessura da cartilagem (Toyras et al, 2002). Este meio de diagnóstico imagiológico apresenta várias limitações em relação ao Rx, uma vez que nem todas as regiões anatómicas são de fácil acesso, sendo difícil obter uma leitura através da ecografia. No entanto, permite detectar mais precocemente as remodelações periarticulares e os osteófitos, que o Rx (Denoix, 1996; Rocha F, 2008; Miranda M, 2012).

Figure 7 - Imagem ecográfica obtida da face dorsal do boleto (1=pele, 2=cápsula articular, 3=sinóvia dorsal, 4=côndilo metacarpiano) (Ann. Méd. Vét. 2006) – adaptada



Os sinais de OA observados por meio do exame ecográfico são:

- Diagnóstico de sinovite;
- A membrana sinovial aparece hiperecogénica;
- Visualizar as vilosidades sinoviais;
- Visualizar osteófitos marginais.

(Miranda M, 2012)

5.3 Artroscopia

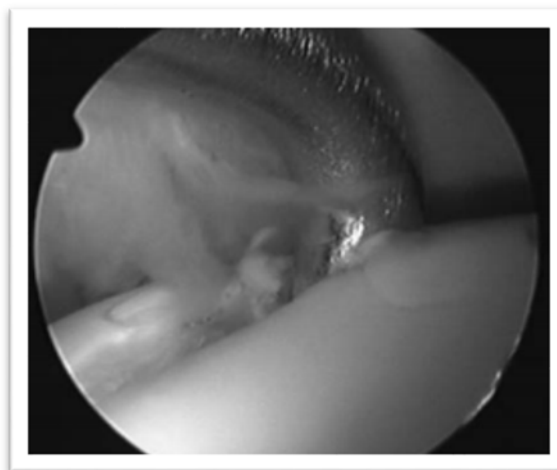
A artroscopia é um meio de diagnóstico que detecta lesões em qualquer fase de desenvolvimento, tanto a nível da cartilagem articular como a nível da membrana sinovial (Brommer H, Rijkenhuizen AB, Brama PA, Barneveld A & Van Weeren PR, 2004) (Figura 5). É uma técnica que apresenta inúmeras vantagens, tais como (McIlwraith CW, 2005):

- A avaliação precisa e objectiva de uma articulação individual, através de uma pequena incisão, permitindo a avaliação de numerosas lesões, bem como o reconhecimento de novas situações que não são passíveis de detectar por meio do Raio-X;
- Permite fazer todos os tipos de manipulações cirúrgicas através da incisão e sob a visualização artroscópica, sendo estas menos traumáticas e com inúmeras vantagens estéticas e funcionais;
- Diminui significativamente o tempo de convalescença, com um rápido retorno ao trabalho e aumento das performances.

(Storz K, 2017)

A artroscopia tem como principal desvantagem o facto de exigir uma anestesia geral (Storz K, 2017; Rocha F, 2008).

Figura 8 - Imagem artroscópica da articulação do boleto (AAEP, 2006) - adaptada



Os sinais de OA observados por meio da artroscopia:

- Observação directa da capsulite/sinovite;
- Fibrilhação da cartilagem articular;
- Linhas de desgaste na cartilagem articular;
- Lesões a nível dos ligamentos responsáveis por estabilizar a articulação;
- Em algumas situações, visualizar o osso subcondral.

(Rocha F, 2008)

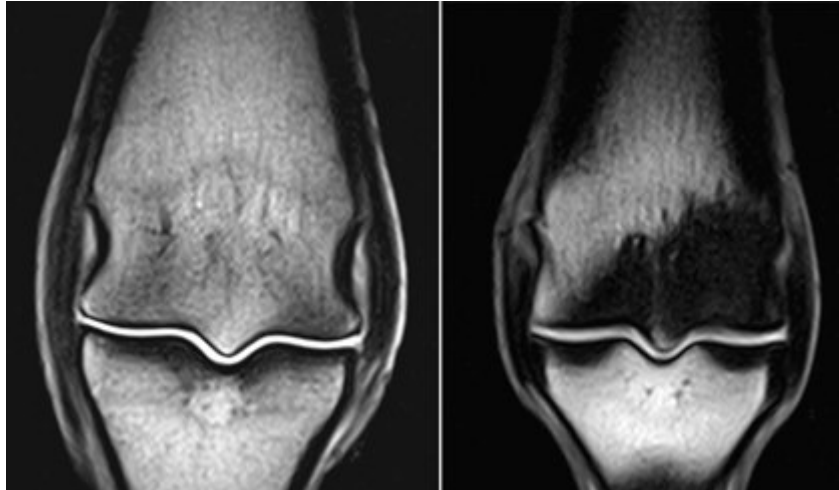
5.4 Ressonância Magnética

A Ressonância Magnética fornece, de forma não invasiva, imagens de alta resolução e tridimensionais de todas as estruturas articulares, sendo o melhor meio de avaliação da geometria articular (Caron, 2003).

Esta técnica imagiológica permite avaliar o efeito do exercício no osso subcondral do cavalo e até se pode visualizar a lesão osteocondral, incluindo pequenos fragmentos. As limitações

da Ressonância Magnética são inerentes à incapacidade em integrar algumas regiões do corpo dentro do campo magnético. Assim, as regiões axiais situadas caudalmente à 4ª e 5ª vértebras cervicais e as regiões proximais do membro do cavalo adulto não podem ser examinadas (Whitton C, Murray RC & Dyson SJ, 2003).

Figura 9 - Ressonância magnética do boleto (AAEP, 2012) - adaptada



Os sinais de OA observados por meio da ressonância magnética são:

- Visualização de alterações na cápsula articular;
- Lesões nos ligamentos que estabilizam a articulação;
- Degenerescência da cartilagem articular;
- Diagnóstico de quistos no osso subcondral (Rocha, 2008).

5.5 Tomografia computadorizada

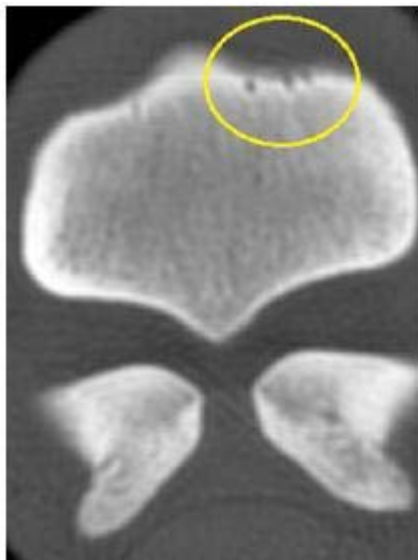
Nesta técnica imagiológica, a imagem é obtida por meio de um feixe de Raio-X que atravessa a área anatómica a ser examinada e pela quantificação desses mesmos feixes por uma série de detectores (André M & Resnick D, 1996; Tucker RL & Sande RD, 2001). Permite a visualização da área de interesse em três dimensões (3D) e determinar os padrões de densidade. (McIlwraith CW, 2005). A tomografia computadorizada tem as mesmas limitações anatómicas que a ressonância magnética, exigindo também uma anestesia geral (Rocha F, 2008).

Os sinais de OA observados por meio da tomografia computadorizada são:

- Diagnóstico de fraturas intra-articulares não diagnosticadas por meio do Rx;
- Esclerose do osso subcondral induzida pelo stress;
- Alteração nos contornos ósseos;
- Diagnóstico de quistos no osso subcondral.

(Rocha F, 2008)

Figura 10 - Tomografia computadorizada, plano transverso. Irregularidade do osso subcondral na região dorsal do 3º metacarpo (Machado VMV, Aguiar ACS, Viana GF, Crosignani NO & Puoli JNP, 2016) - adaptada



5.6 Cintigrafia nuclear

A cintigrafia nuclear baseia-se na detecção de moléculas de polifosfonato, marcadas com tecnécio em zonas com elevada remodelação óssea (Ueltschi G, 1997). O rádio – isótopo liga-se aos cristais de hidroxipatite do osso recém-formado, e a detecção da actividade radioactiva no osso é feita por meio de uma câmara de raios gama (Sociedade Portuguesa de Medicina Nuclear [SPMN], 2012).

A cintigrafia nuclear pode ser utilizada em muitas situações clínicas, mas recorre-se a esta técnica sobretudo nas seguintes ocasiões:

- Exame corporal completo (“check-up locomotor”) em cavalos que não apresentam quaisquer sintomas de claudicação mas têm desempenhos desportivos baixos (Rocha F, 2008);
- No diagnóstico de claudicações específicas, que não apresentam sinais de alteração radiológica através da deposição de rádio-isótopos em locais onde existe um aumento do metabolismo ósseo (Rocha F, 2008).

Trata-se de um meio de diagnóstico com elevada sensibilidade mas com pouca especificidade (SPMN, 2012).

Figura 11 - Cintigrafia nuclear da articulação metacarpofalângica (AAEP Proceedings, 2005) - adaptada



5.7 Análise do líquido sinovial

A cor, transparência, volume e viscosidade são parâmetros que devem ser logo avaliados após a artrocentese (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

O fluido sinovial obtido de uma articulação normal apresenta-se transparente, com uma coloração amarela transparente e isento de partículas. A presença de uma ligeira coloração vermelha no líquido sinovial é indicativo de trauma ou sangramento causado pela agulha durante a artrocentese. A presença de líquido sinovial tingido com uma cor âmbar pode ser devida à existência de uma lesão articular crônica. A presença de líquido sinovial pouco claro, turvo ou amarelo escuro é devida à inflamação articular e a presença de matérias purulentas indica a existência de inflamação serofibrinosa que normalmente está associada à artrite séptica (Rocha F, 2008)

A viscosidade está directamente relacionada com a quantidade e qualidade do ácido hialurónico secretado pela membrana sinovial. A diminuição da viscosidade tem sido atribuída a uma concentração reduzida ou despolimerização do ácido hialurónico sinovial (Orsini JA & Divers TJ, 2003).

A avaliação da quantidade, do tipo e do estado de degradação dos glóbulos brancos é muito importante para caracterizar a inflamação (Rocha F, 2008).

O valor das proteínas totais é importante para avaliar o grau de inflamação. Por outro lado, a concentração de glucose no fluido sinovial é comparada com a concentração que existe no soro. Se estiver comparativamente mais baixa, presume-se que seja devido à presença de células inflamatórias e bactérias no fluido sinovial (Orsini JA, Divers TJ, 2003).

Tabela 2 - citologia do fluído sinovial (Diagnosis and Management of lameness in the horse, 2011) - adaptada

Citologia do fluido sinovial para várias condições clínicas e diagnóstico ou manipulações terapêuticas									
Parâmetros	Normal	Sinovite moderada (OCD)	Osteoartrite	Artrite infecciosa	Artrocentese	Solução de eletrólitos	Anestésicos locais	Gentamicina	DMSO 10%
Leucócitos totais (por μ l)	50-500	20-250	$\leq 1 \times 10^3$	$20-200 \times 10^3$	$1-4 \times 10^3$	$6-45 \times 10^3$	$2-10 \times 10^3$		$8-40 \times 10^3$
Neutrófilos (%)	< 10	< 10	< 15	> 90	50	80	80	50	> 50
PMN (%)	> 90	> 90	> 85	< 10	50	20	40	50	< 50
Proteínas totais (g/dl)	0,8 - 2,5	0,8 - 3,0	0,8 - 3,5	4,0 - 8,0+	1,5 - 2,5	3,0 - 4,0	2,5 - 4,0	4,5 - 8,0	2,5 - 4,0

5.8 Diagnóstico laboratorial da OA por meio de biomarcadores

O termo biomarcador tem vindo a ser usado para descrever indicadores directos ou indirectos da renovação músculoesquelética (Billinghurst RC, 2003). Os biomarcadores são moléculas que são produtos primários ou secundários do metabolismo do sistema músculo-esquelético. Em situações de doença articular, estas moléculas podem ser libertadas no fluido sinovial, provenientes da cartilagem articular, dos meniscos, dos ligamentos ou da membrana sinovial. Caso ocorra participação do osso subcondral adjacente, as moléculas do tecido ósseo são lançadas na corrente sanguínea. Os biomarcadores intervêm no processo fisiopatológico da articulação, permitindo fazer o diagnóstico diferencial entre articulações afectadas e não afectadas, distinguir o grau de degradação da cartilagem articular e monitorizar a resposta à terapêutica (McIlwraith CW, 2005). Os biomarcadores directos são originados, principalmente, a partir de estruturas cartilaginosas e fornecem informações específicas acerca da alteração na matriz da cartilagem (Thonar EJ – MA et al, 1999).

Biomarcadores directos e individuais do metabolismo da cartilagem

- Biomarcadores do processo anabólico:

O propeptido carboxiterminal do colagénio tipo II (CP II) é útil na avaliação da síntese de colagénio do tipo II. Embora as concentrações do CP II não sejam altas nas amostras do fluido sinovial de articulações com fragmentação osteocondral, as suas concentrações são

notavelmente altas no soro de cavalos com fragmentação osteocondral (Frisbie DD et al, 1999).

- Biomarcadores do processo catabólico:

A avaliação da degradação do colagénio tipo II com biomarcadores é extremamente útil na monitorização da OA e OCD no cavalo. Foram desenvolvidos anticorpos para identificar fragmentos de colagénio que foram divididos e/ou desnaturados, expondo regiões da molécula antes inacessíveis. Usando estes anticorpos, foram demonstrados aumentos consideráveis de degradação do colagénio tipo II nas concentrações do fluido sinovial e nas amostras de soro do cavalo, cão e coelho, onde foi induzida experimentalmente a OA (Billinghurst et al, 1997). Outros biomarcadores têm sido avaliados no cavalo, tais como sulfato de queratina (KS) e a COMP. A COMP é uma proteína não colagénica que faz parte da estrutura da cartilagem articular. É produzida pelos sinovócitos na OA e pode ser útil como marcador da sinovite (Ishijima M, Kaneko H & Kaneko K, 2014).

Biomarcadores directos e individuais do metabolismo ósseo

- Biomarcadores do processo anabólico:

A osteocalcina é uma proteína não colagénica associada à renovação óssea, que pode ser doseada no fluido sinovial ou no soro. Porém a osteocalcina que está dentro da articulação poderá derivar da circulação sistémica (Salisbury C & Sharif M, 1997). A osteocalcina diminui com a idade. A fosfatase alcalina específica do osso (BAP) tem igualmente um papel importante na formação óssea. É expressa ao nível da superfície celular dos osteoblastos, podendo ser doseada no soro e líquido sinovial. Estudos efectuados sugerem que o metabolismo do osso subondral tem influência na patogenia da OA (Carstanjen B, Sulon J, Bauga-Mboko H & Beckers JF, Remy B, 2003).

- Biomarcadores do processo catabólico:

Fragmentos de telopeptidos de colagénio tipo I não helicoidal (ICTP) foram avaliados como marcadores da reabsorção óssea no Homem (Cortet B et al, 1997; Garnero P et al, 1999). Também os telopeptidos C do colagénio tipo I (CTX) podem vir a ser úteis como marcadores de reabsorção óssea. A sialoproteína óssea (BSP) é uma proteína específica do tecido ósseo adulto do Homem, encontrando-se em maiores concentrações ao nível da interface osso-cartilagem. A BSP também é encontrada ao nível da mesma interface nos que apresentam lesões ósseas cartilaginosas (Ekman [S](#), [Skjoldbrand E](#), [Heinegard D](#) & [Hultenby K](#), 2005). A deoxipiridinolina (DPYR) é um marcador da reabsorção óssea presente na urina e está associado à OA no Homem (Pundzi [L](#), [Oliveiro F](#) & [Plebani M](#), 2005). Um dos principais objectivos do estudo dos biomarcadores é poder ser feito o diagnóstico antecipado da doença do osso subcondral, evitando assim a ocorrência de fracturas (Frisbie DD, Al-Sobayil, Billinghurst C & McIlwraith CW, 2003).

6. TRATAMENTO MEDICO DA OA

Os principais objectivos do tratamento médico da doença articular são a resolução de sinovites e capsulites, a prevenção do aparecimento de OA e o alívio da dor (McIlwraith CW, 2005).

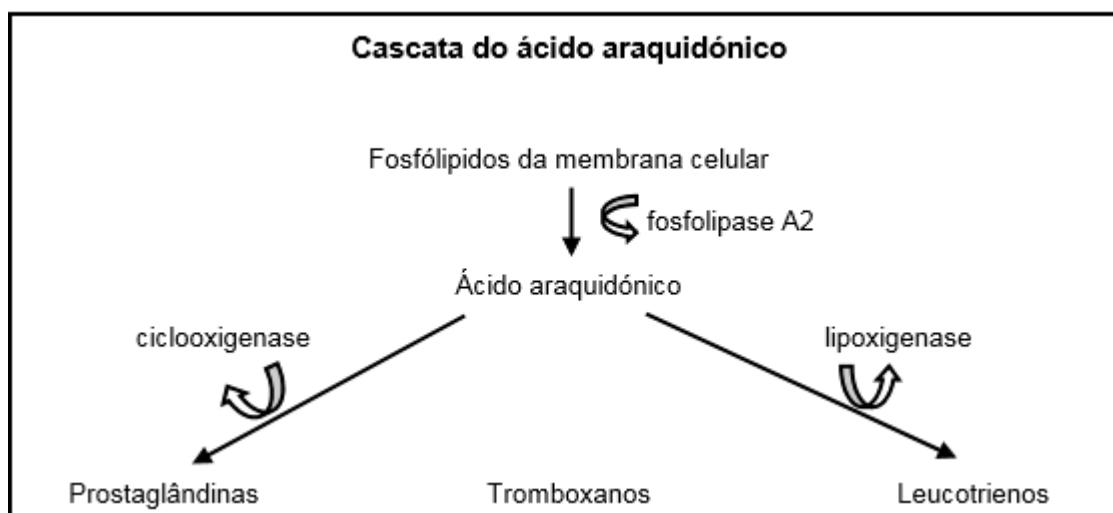
6.1 Anti-inflamatórios não esteróides (AINEs)

Os medicamentos mais utilizados nesta terapêutica são os anti-inflamatórios não-esteróides, que têm um forte poder analgésico e permitem manter confortável um cavalo com OA, contudo os efeitos secundários a eles adjacentes, tornam-nos contra-indicados a médio e longo prazo (Cruz H, 2014).

Os AINEs inibem a ciclooxigenase (COX), uma das enzimas responsáveis pela conversão do ácido araquidónico em prostaglandinas (Figura 12). Existem duas formas importantes de COX:

- A COX1, responsável pela manutenção da homeostasia atribuída à PGE2 (a nível gastro-intestinal e renal), sendo o seu papel de menor importância na cascata da inflamação;
- A COX2, responsável pela elevação dos níveis de PG em situações inflamatórias, especialmente as que são mediadas por macrófagos e sinoviócitos (Caron JP e Genovese, 2003).

Figura 12 - Cascata do ácido araquidónico (Diagnosis and Management of lameness in the horse, 2003) - adaptada



A PGE2 sensibiliza as terminações dos nervos periféricos aos estímulos mecânicos e amplifica a sensibilidade dos receptores da dor por meio de outros mediadores inflamatórios (bradicinina e histamina), os quais actuam como substâncias analgésicas. (Bonica JJ et al, 1990). Os AINEs mais utilizados em cavalos são: suxibuzona, fenilbutazona, flunixinina

meclumina, naproxeno, cetoprofeno e carprofeno, para os quais a farmacologia básica nos equinos foi revista (Lees P, May SA, White D, 1990; May SA & Lees P, 1996).

Tabela 3 - AINEs utilizados no tratamento da dor musculoesquelética (Diagnosis and Management of lameness in the horse, 2011) - adaptada

AINEs utilizados no tratamento da dor músculo-esquelética	
Substância activa	Dose recomendada (mg/Kg)
Suxibuzona	6,25 BID (PO)
Fenilbutasona	4,4 BID (IV/PO)
Carprofeno	0,7 SID (IV)
Flunixinina meglumina	1,1 SID, durante 5 dias (IV,IM,PO)
Naproxeno	10 SID, até 14 dias (PO)
Cetoprofeno	2,2 SID (IV)

6.2 Corticosteróides

Os corticosteróides são os agentes anti-inflamatórios mais potentes usados no tratamento da OA. Normalmente, são injectados directamente na articulação afectada, por artrocentese, deprimindo os processos inflamatórios, tais como a dilatação capilar, a marginação e a migração e acumulação de células inflamatórias, impedindo assim a libertação de enzimas, citocinas e outros mediadores inflamatórios (Trotter GW, 1996; Gray RG, Tenenbaum J & Gottlieb NL, 1981). Os corticosteróides inibem a produção de PGE₂, através da inibição da fosfolipase A₂ e COX₂ (mas não a COX₁) (Masferrer JC & Seibert K, 1994), sendo a inibição do metabolismo do ácido araquidónico a causadora de uma rápida e pronunciada redução da dor. As formulações de corticosteróides para administração intra-articular (IA) mais utilizadas em medicina veterinária são: a metilprednisolona, a betametasona e a triamcinolona. Apesar dos efeitos benéficos na redução da inflamação e da sua acção na degradação dos mediadores inflamatórios libertados pelas células, é preciso também avaliar os seus efeitos secundários ao nível da cartilagem, quando é considerado o seu uso numa articulação inflamada (Moore RM & Walesby HA, 2004). A administração de altas concentrações de corticosteróides repetidamente promove a inibição da síntese de proteoglicanos e tem uma acção negativa ao nível da estrutura do colagéneo da cartilagem articular (Chunekamrai et al, 1989; Oegema TRJ & Behrens F, 1981). O uso repetido de corticosteróides pode levar ao aparecimento de uma artropatia, em que se verifica aumento da articulação devido à distensão da cápsula e à formação de novo osso osteofítico e diminuição da mobilidade articular. Após a administração de corticosteróides em

articulações lesionadas, é necessário que exista um período de descanso para que o ácido hialurónico retome os seus níveis normais (Moore RM & Walesby HA, 2004).

Tabela 4 - Suspensões de corticosteróides IA (Diagnosis and Management of lameness in the horse, 2011) - adaptada

Suspensões de corticoesteróides usados intra-articularmente			
Corticoesteróide	Concentração (mg/ml)	Dose (mg)	Potência relativa à hidrocortisona
Betametasona	6	3-18	30
Triamcinolona	6	6-18	5
Metilprednisolona	40	40-120	5

6.3 Hialuronato de sódio

Um estudo realizado em 1970, utilizando um modelo com fractura osteocondral bilateral, mostrou que a administração IA de hialuronato de sódio (HA) tinha um efeito protector na cartilagem articular e reduzia o grau de claudicação (Moore RM & Walesby HA, 2004). Vários estudos in vivo e in vitro mostraram que o HA tinha um efeito protector contra a IL-1 e as PG e inibia os radicais livres de oxigénio. No entanto, a capacidade para inibir as MMP é questionável (Lynch TM et al, 1998; Clegg PD, Jones MD & Carter SD, 1998). McIlwraith CW (2005) defende que a utilização de HA isoladamente é inútil no tratamento da sinovite ligeira e moderada, sendo necessário adicionar corticosteróides para que a terapia com HA seja efectiva no tratamento da doença articular. Um estudo em que o HA foi administrado por via intravenosa (IV) demonstrou que havia uma melhoria significativa na claudicação, uma diminuição na concentração de PGE2 e proteínas totais no líquido sinovial, bem como uma diminuição da hiperémia ao nível da membrana sinovial (Kawcak CE et al, 1997).

6.4 Glicosaminoglicanos polisulfatados (Adequan®)

O uso de glicosaminoglicanos polisulfatados (PSGAGs) visa prevenir e retardar lesões morfológicas da cartilagem, bem como a sua degeneração na OA, através do controlo de todo o mecanismo inflamatório da articulação afectada. Um estudo feito na Universidade de Colorado, do qual McIlwraith fez parte, não provou que os PSGAGs revertissem lesões da cartilagem articular. O principal PSGAG é o sulfato de condroitina. Os PSGAGs apresentam propriedades condroprotectoras, o que torna o seu uso bastante útil quando se está perante uma situação de sinovite aguda, associada à lesão da cartilagem. Existem PSGAGs disponíveis também para administração oral, para além da intra-articular, o que facilita a

utilização dos mesmos (McIlwraith, 2008).

6.5 Pentosan polifosfato

Um trabalho recente mostrou que o uso de pentosan polifosfato (PPS) provocava uma diminuição da fibrilhação da cartilagem articular. Também mostrou uma melhoria noutros parâmetros, como o grau de claudicação, a dor à flexão articular, a concentração das proteínas totais no fluido sinovial e a degradação do colagénio (Moore RM & Walesby HA, 2004).

6.6 Ácido tiludrónico (Tildren ®)

O ácido tiludrónico é uma substância activa pertencente à classe dos bisfosfonatos, que são fármacos inibidores da reabsorção óssea. Os bisfosfonatos inibem a reabsorção óssea através da sua acção sobre os osteoclastos. O ácido tiludrónico ajuda a regular a remodelação óssea nas situações em que ocorre excessiva reabsorção óssea. É indicado no tratamento da síndrome navicular e de osteoartrose ao nível das articulações inter-társica distal e tarso-metatarsica (New Animal Drug Application [NADA], 2014).

6.7 Terapias mais recentes para a OA

Ondas de choque

Num estudo efectuado em 24 cavalos, nos quais foi induzida a OA, foram utilizados vários tipos de tratamentos médicos tais como corticosteróides IA e hialuronan por via intra-vascular, o PPS por via intra-muscular (IM) e ondas de choque. Esse estudo mostrou que no grupo onde foi utilizada a terapia com ondas de choque ocorria uma melhoria da claudicação, bem como uma diminuição significativa da sinovite e da concentração de proteínas totais. A diminuição destes parâmetros permitiu verificar alguma eficácia das ondas de choque no tratamento da OA, principalmente ao nível dos tecidos moles que compõem a articulação, bem como a redução da claudicação e do grau de sinovite. No entanto, não foram verificadas quaisquer melhorias ao nível da progressão histológica da artrite, sendo portanto considerada necessária a combinação desta terapia com agentes condro-protectores (Kawcak CE, Frisbie DD & McIlwraith CW, 2011; Frisbie DD et al, 2004).

Células estaminais mesenquimatosas

As células estaminais mesenquimatosas apresentam uma grande capacidade para regenerar tecidos sem a formação de tecido de cicatrização, que normalmente está associado ao processo de recuperação. Os protocolos mais usados na medicina equina utilizam células adultas versus células embrionárias. Recentemente foram demonstradas várias fontes de células estaminais, tais como: músculo, cartilagem e tecido adiposo. No

entanto, a medula óssea continua a ser a principal fonte de células estaminais. Segundo um trabalho laboratorial desenvolvido por Frisbie (2007), verificou-se que havia um menor potencial condrogénico das células estaminais, derivadas do tecido adiposo em relação às células estaminais provenientes da medula óssea. Num estudo realizado por Murphy em equinos com OA induzida, foi testado o tratamento com células estaminais provenientes da medula óssea num grupo, e com células estaminais provenientes do tecido adiposo no outro grupo, não havendo melhorias significativas em nenhum dos dois. No entanto, verificou-se que os cavalos tratados com células provenientes da medula óssea apresentavam uma redução significativa nos níveis de PGE2 no líquido sinovial. Segundo este estudo, as células estaminais mesenquimatosas por si só têm pouca capacidade para contrariar a progressão da OA, mediada pela degradação enzimática durante a fase aguda, não sendo portanto indicado para o tratamento dos casos clínicos de OA aguda (Frisbie DD, 2011).

Terapia genética

A terapia genética consiste na produção de uma proteína antagonista dos receptores da IL-1 (IRAP) que tem como função ligar-se aos receptores da IL -1, impedindo assim a interacção da IL-1 com o seu receptor. Como a IL-1 tem um papel importante na cascata inflamatória, causando sinovite e dor articular, ao bloquear esta interacção o IRAP pode diminuir a dor e a inflamação articular, criando-se condições para uma recuperação da funcionalidade articular de uma forma mais rápida e eficaz. O potencial valor da terapia genética no tratamento da doença articular é, em parte, baseado nas limitações da terapia tradicional (Levick JR, 1984). Na terapia tradicional, o tempo de semi-vida da maioria dos agentes administrados por via IA é curta, sendo necessárias frequentes administrações IAs para sustentar a actividade biológica do fármaco por longos períodos de tratamento. Todas estas condicionantes da terapia tradicional podem vir a ser contornadas com o uso da terapia genética, uma vez que com uma única administração de uma IRAP, IA na articulação afectada pode resultar na produção de uma proteína terapêutica específica, por um longo período de tempo (Otani K et al, 1996). Já foi mostrado que as citocinas, tais como a IL-1 e o TNF- α , regulam a produção de MMP por parte dos sinoviócitos e condrócitos, sendo em grande parte responsáveis pela progressão da doença articular. Este tipo de informação realça a importância do uso terapêutico dos inibidores das citocinas, bem como dos agentes modeladores (Arend WP & Dayer JM, 1990).

Um trabalho de cooperação entre vários departamentos médicos americanos foi bem-sucedido no tratamento da doença articular no cavalo através da terapia genética. Os resultados da terapia genética efectuada mostraram que os cavalos sujeitos a esta terapia apresentavam um grau de claudicação significativamente menor, uma menor efusão sinovial e uma diminuição da gravidade das lesões. A avaliação microscópica e bioquímica da

cartilagem articular mostrou também uma melhoria significativa. Não foram detectados quaisquer efeitos secundários com o tratamento de transferência de genes na articulação. A terapia genética ainda necessita de mais trabalho e investigação para melhorar a sua eficácia. No entanto, esta técnica pode vir a revolucionar o tratamento da artrite equina (Frisbie DD et al, 2000).

Plasma Rico em Plaquetas (PRPs)

Cada vez mais se tem vindo a recorrer aos PRPs no tratamento de lesões cartilaginosas, como regenerador da homeostasia e retardador da progressão da OA. Um estudo efectuado em equinos com OA provou haver um interessante potencial condrogénico dos PRPs, especialmente quando utilizados em conjunto com as células estaminais, mas também quando utilizados individualmente, tendo efeitos positivos na funcionalidade de articulações afectadas de cavalos com claudicações moderadas (Broeckx et al., 2014).

Laser

Já existem alguns protocolos de tratamento de OA que recorrem à Lazerterapia. O laser na OA promove um efeito inibidor do processo inflamatório da cápsula articular, com consequente efeito analgésico positivo (Bjordal JM et al., 2003).

PARTE III – OZONOTERAPIA INTRA-ARTICULAR NA ARTICULAÇÃO METACARPO-FALÂNGICA DE CAVALOS COM OSTEOARTRITE: QUAIS OS SEUS EFEITOS MELHORADORES DA PATOLOGIA?

7. OBJECTIVOS DO ESTUDO

Este estudo foi efectuado no âmbito de uma Tese de mestrado do curso de medicina veterinária. Teve como objectivo a avaliação dos efeitos melhoradores da ozonoterapia em relação à OA da articulação metacarpo-falângica em equinos e à sintomatologia associada, principalmente a manifestação de claudicação.

8. INTRODUÇÃO

A OA é uma patologia das articulações que se pode apresentar de forma variada, como a destruição da cartilagem articular, que pode apresentar fibrilações e fissuras, como uma esclerose do osso subcondral e formação de osteófitos marginais (Caron JP, 2011). Em estádios mais graves da afecção, o osso subcondral pode-se encontrar desprovido de cartilagem, numa superfície mais ou menos extensa. Podem estar presentes lesões da cartilagem sem envolver alterações ósseas, tal como o contrário também é possível. (McIlwraith CW, 2001).

A OA é uma das principais causas de claudicação em cavalos, havendo uma grande variabilidade sintomatológica associada ao grau de OA, pois esta relação não é linear. Tendo em conta a expressividade desta patologia, especialmente em cavalos utilizados em competição, e a limitação que esta mesma constitui, o estudo de novas alternativas de tratamento da OA tem sido alvo de muito interesse e dedicação.

Os principais objectivos do tratamento da OA são a diminuição da dor, o melhoramento da mobilidade articular e a redução do processo inflamatório associado. Apesar de estarmos numa era moderna e de grandes avanços na medicina, ainda não existe nenhum fármaco que cure a OA. (Grainger & Cicuttini, 2004).

A ozonoterapia intra-articular foi uma das mais recentes alternativas a ser considerada como viável para o tratamento desta patologia, havendo já muitos estudos que comprovam a eficácia do ozono intra-articular, sobretudo realizados na medicina humana (J. Joaquim, comunicação pessoal, Outubro de 2017). O interesse da utilização de Ozono intra-articular para o tratamento da OA prende-se, sobretudo, com a sua actividade anti-inflamatória e analgésica, essencial para o alívio dos sintomas e para atenuar a inflamação associada a esta patologia. A escassez de efeitos secundários associados à Ozonoterapia nas doses e concentrações correctas e indicadas é um dos factores que torna esta alternativa extremamente útil (Bocci V aa & aaaaa, 2005).

9. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado nas instalações do 3ºEsquadrão da GNR, em Braço de Prata, em equinos do mesmo estabelecimento. Inicialmente foram definidos alguns critérios de selecção dos exemplares que poderiam integrar este estudo, de modo a torná-lo o mais fiável possível. Os critérios de selecção exigidos foram:

- idade não superior a 16 anos;
- cavalo em trabalho;
- fácil maneio (ou seja, que permita a execução de uma infiltração intra-articular sem ser necessário recorrer a qualquer tipo de sedação ou anestesia);
- Claudicação presente devido a dor provocada por OA na articulação metacarpo-falângica;
- ausência de corticoterapia e utilização de AINES nos últimos seis meses;
- dor articular isolada com anestesia intra-articular do boleto positiva;
- OA do boleto positiva confirmada por Radiologia.

Cumprindo estes critérios, foram seleccionados para o estudo 4 EQUINOS.

Exame de Selecção

O processo de selecção dos equinos a integrar no estudo incluiu inúmeras etapas (por ordem de execução):

Exame Clínico

Exame Estático

Neste exame avaliaram-se visualmente vários factores, tais como os aprumos, presença de cicatrizes, conformação do casco e presença de efusões articulares e tendinosas (Figura 13).

Figura 13 - Exame estático observacional - original



Exame Dinâmico de Claudicação

Inicialmente realizou-se um exame simples de claudicação, tendo em conta apenas os membros anteriores, pelo facto de o interesse deste estudo incidir apenas nas articulações metacarpo-falângicas (tabela 5).

Tabela 5 - Exame dinâmico de claudicação - original

Ordem de execução		Grau de Claudicação (0-5)
1	Passo e Trote em linha recta (piso duro)	X/5 do membro anterior E ou D
2	Guia para o lado esquerdo (piso mole) – passo e trote	X/5 do membro anterior E ou D
3	Guia para o lado direito (piso mole) – passo e trote	X/5 do membro anterior E ou D

Figura 14 - Exame dinâmico de claudicação - original



Deste primeiro exame, pretende-se averiguar qual o membro anterior do qual o equino claudica com maior expressão. Posteriormente procedeu-se a uma avaliação e graduação de claudicação (segunda a escala da AAEP – tabela 1, página 23), do cavalo a trote, em linha recta e piso duro após uma flexão da articulação metacarpo-falângica do membro seleccionado no exame anterior. Também se classificou o grau de positividade da flexão, utilizando-se os valores 0, 25, 50, 75 e 100%.

A seguinte fase do exame consistiu nos Bloqueios perineurais da extremidade distal do membro claudicante e posterior graduação da claudicação após cada um dos mesmos. O anestésico utilizado foi sempre a Mepivecaína e os bloqueios perineurais efectuados foram, por ordem de execução, o Digital Palmar, o Abaxial e os 4 Pontos Baixos (Tabela 6).

Tabela 6 - Exame de claudicação após bloqueios anestésicos perineurais - original

Bloqueio Perineural		Grau de claudicação (0-5)	Positividade do Bloqueio (0, 25, 50, 75 ou 100%)
1 Digital Palmar	Em linha recta (piso duro)	X/5	
	Guia para o lado esquerdo (piso mole)	X/5	
	Guia para o lado direito (piso mole)	X/5	
2 Abaxial	Em linha recta (piso duro)	X/5	
	Guia para o lado esquerdo (piso mole)	X/5	
	Guia para o lado direito (piso mole)	X/5	
3 4 Pontos Baixos	Em linha recta (piso duro)	X/5	
	Guia para o lado esquerdo (piso mole)	X/5	
	Guia para o lado direito (piso mole)	X/5	

Figura 15 - Bloqueio anestésico intra-articular - original

Os Bloqueios perineurais têm como objectivo localizar a zona de onde provém a dor exibida pelo equino, com consequente repercussão na locomoção.

Para finalizar o exame dinâmico e confirmar que a dor na origem da claudicação provinha da articulação, procedeu-se ao bloqueio anestésico intra-articular do boleto, através da artocentese pelo recesso lateral e recorrendo à Mepivecaína, com posterior exame dinâmico de claudicação (tabela 7).



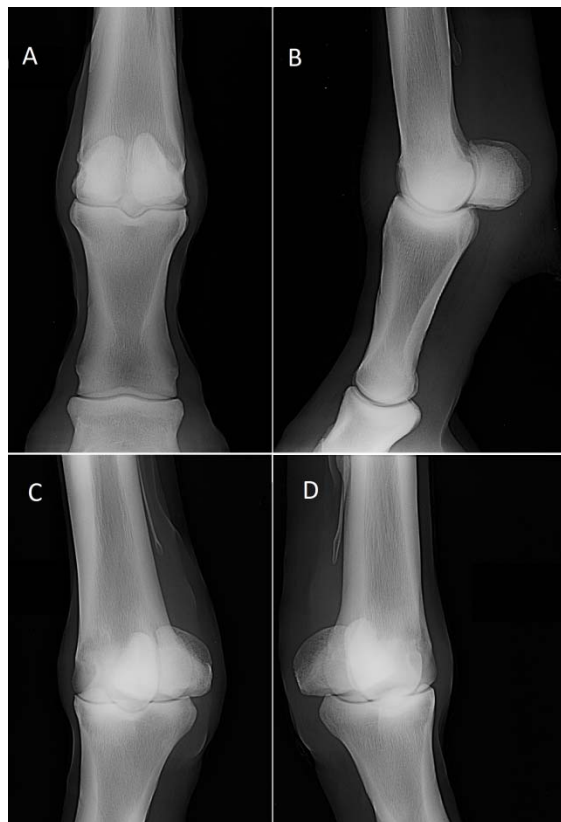
Tabela 7 - Exame de claudicação após bloqueio intra-articular do boleto - original

Bloqueio Anestésico Intra-articular do Boleto		
	Grau de claudicação (0-5)	Positividade do Bloqueio (0, 25, 50, 75 ou 100%)
Trote em linha recta (piso duro)		
Guia para o lado esquerdo (piso mole)		
Guia para o lado direito (piso mole)		

Exame Radiológico

Para finalizar o exame de selecção e confirmar a presença de OA no boleto, através da visualização de sinais radiográficos típicos, procedeu-se ao exame radiológico da referida articulação, realizando-se 4 projecções. As projecções radiográficas efectuadas foram a dorso-palmar (DP), a latero-medial (LM), a oblíqua dorso-latero-palmar-medial (DLPM) e a oblíqua dorso-medio-palmar-lateral (DMPL) (figura 16).

Figura 16 - Exame radiológico com as 4 projecções (Dorsopalmar - A, Lateromedial - B, Oblíquas Dorsolatero-palmaromedial - C e Dorsomedio-palmarolateral - D) - original



Após os vários exames de selecção efectuados, conseguiram-se 4 exemplares que cumpriam todos os requisitos exigidos para este estudo.

Protocolo Terapêutico

O protocolo terapêutico elaborado para este estudo consistiu em 5 sessões terapêuticas, intervaladas de 7 dias entre cada uma, de administração intra-articular de ozono na articulação metacarpo-falângica afectada com OA.

Para o seguinte protocolo utilizou-se:

Nas três primeiras sessões foram aplicados 8 mL de ozono, na concentração 15 µg/mL, e nas últimas duas sessões foi aplicado o mesmo volume de ozono, mas na concentração 25 µg/mL.

Figura 17 - Algumas etapas do protocolo (do lado esquerdo a infiltração intra-articular e do lado direito a obtenção do ozono) - original



Por cada sessão de tratamento foram efectuados três exames dinâmicos de claudicação (Anexo I), em intervalos de tempo específicos. O primeiro realizou-se imediatamente antes de cada sessão de tratamento, o seguinte realizou-se de igual forma, 15 minutos após a administração intra-articular de ozono, e o terceiro realizou-se passados 3 dias. Este exame de claudicação foi bastante simples, consistindo na avaliação da mobilidade e graduação da claudicação, e realizou-se da seguinte forma e pela ordem de apresentação:

1. A passo e trote, em linha recta e em piso duro;
2. A passo e trote, em círculo para o lado esquerdo (à guia) e em piso mole;
3. A passo e trote, em círculo para o lado direito (à guia) e em piso mole.

A graduação da claudicação foi feita de forma independente nos 3 pontos descritos acima. Todos estes exames realizados ao longo do protocolo terapêutico foram efectuados pelos 3 autores do estudo, de forma individual, para que não houvesse qualquer influência entre cada um na graduação da claudicação. Os avaliadores apenas podiam graduar a claudicação com valores inteiros da escala utilizada. Posteriormente, foi feita a média das avaliações dos 3 autores, sendo esta o valor utilizado para os resultados do estudo. O facto de se utilizar as médias fez com que os valores resultantes nem sempre fossem números inteiros.

Para além da avaliação da claudicação, que está relacionada com a dor originada pela OA, aproveitando a mesma artrocentese de cada sessão terapêutica, recolheu-se líquido sinovial articular ao longo do protocolo. Após cada recolha procedeu-se à avaliação conjunta da cor e viscosidade do líquido sinovial, ambas subjectivamente relacionadas com o grau de inflamação articular. Como forma mais objectiva de relacionar o líquido sinovial com o grau de inflamação articular, doseou-se os valores das proteínas totais (PTs) da primeira e última

amostras recolhidas (1ª e 5ª, respectivamente), com o objectivo de as comparar e averiguar a evolução da inflamação.

10. RESULTADOS

Após terminado o protocolo terapêutico nos 4 equinos intervenientes no estudo, foi constatação geral que todos estes manifestaram melhorias.

Figura 18 - 1º caso do estudo - original



Exame de selecção

Exame de Claudicação

LR(PD) – 2/5 MAE

Esq – 2/5 MAE

Guia (piso mole)

Dta – 3/5 MAE

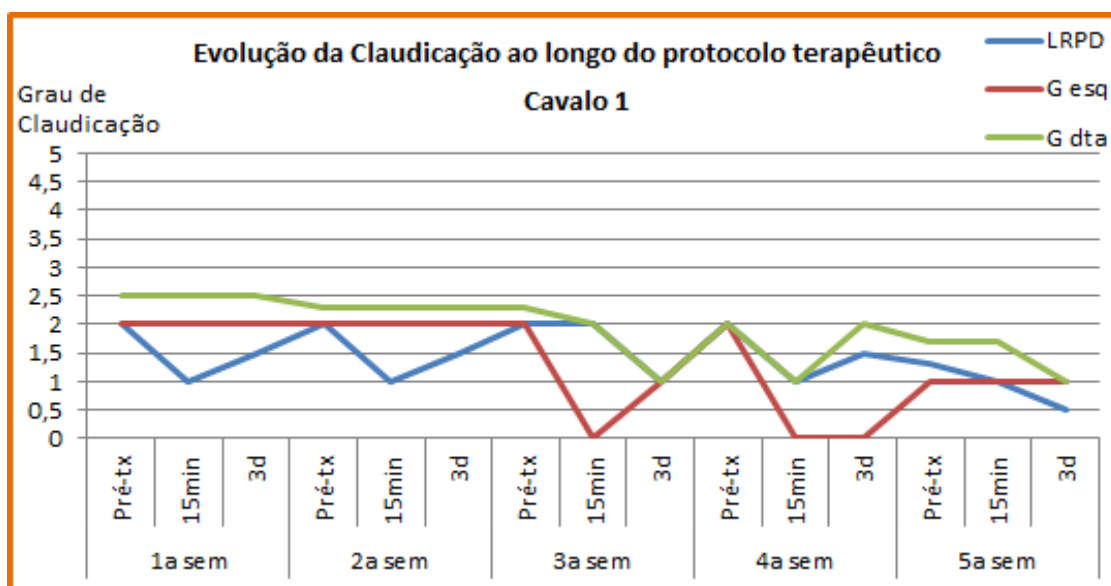
Bloqueios

- [Dig.Palmar](#) (MAE) – sem resposta
- [Abaxial](#) (MAE) – 50 % +
- [4 PB](#) (MAE) – claudicação MAD
- [IA boleto MAE](#) (2d) – 75% +
(RPD – 1/5; GE – 1/5; GD – 2/5)
- [Abaxial](#) (MAE) – 100% +

• Exame Radiológico (Anexo II)

- DP – afilamento dos bordos articulares lateral e medial da 1ª falange (boleto);
- LM – Remodelação óssea dos côndilos articulares medial e lateral do metacarpo III; remodelação óssea do bordo dorsal articular da 1ª falange (boleto);
- Oblíq. DLPM – afilamento do bordo medial articular (boleto) da 1ª falange.

Gráfico 1 - Evolução da claudicação ao longo do protocolo terapêutico - 1º caso



Como se pode observar neste gráfico, houve algumas oscilações no grau de claudicação exibido por este cavalo. Contudo no final do tratamento foi bem visível a sua melhoria na locomoção. A trote em linha recta no piso duro (LRPD), foi consistente a redução da claudicação no intervalo de 15 minutos após cada tratamento, com excepção da 3ª semana do protocolo terapêutico, e foi a partir da 4ª semana que se notou uma evolução positiva mais marcada.

O cavalo começou a melhorar a partir da 3ª semana para o lado esquerdo, e na 5ª semana estabilizou a claudicação.

Na guia para o lado direito também só se notaram melhorias a partir da 3ª semana.

Proteínas Totais (g/dl) 1,2 —————> 0,9

Para além da redução da claudicação, houve uma diminuição significativa das PTs do líquido sinovial, comparando o valor doseado antes da primeira administração (1,2 g/dl) e o valor depois de executada a última aplicação (0,9 g/dl).

Figura 19 - 2º caso do estudo - original



Cavalo 2

Lusitano

12 anos

Membro claudicante: **Membro anterior direito (MAD)**

Exame de selecção

Exame de Claudicação

LR(PD) – 3/5 MAD

Esq – 3/5 MAD

Guia (piso mole)

Dta – 2/5 MAD

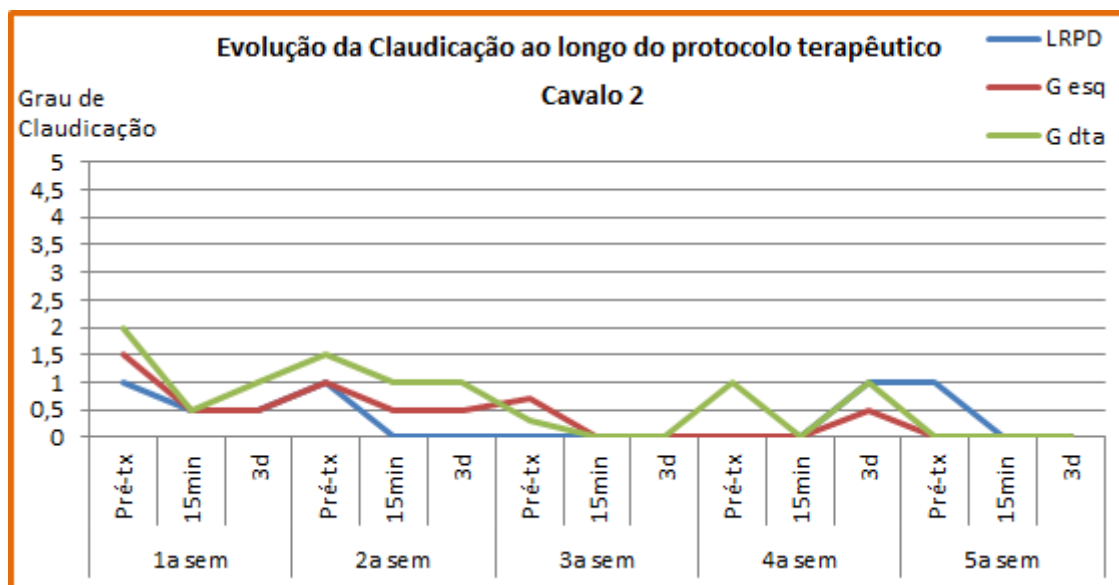
Flexão boleto MAD– 100% + (4/5)

Bloqueios

- [Dig.Palmar](#) (MAD) – 25% (RPD – 2/5; GE – 2/5; GD – 2/5)
- [Abaxial](#) (MAD) – sem resposta
- [IA boleto MAD](#) – 100% +

- Exame Radiológico (Anexo III):
 - DP - Ligeira sinovite, com distensão articular;
 - LM – desmineralização do bordo dorsal articular.

Gráfico 2 - Evolução da claudicação ao longo do protocolo terapêutico - 2º caso



Neste equino, notou-se uma melhoria nítida logo aos 15 minutos após a primeira sessão de tratamento. Ao longo do protocolo observou-se uma melhoria significativa após 15 minutos das diferentes aplicações.

Na LRPD, logo na primeira sessão verificou-se imediatamente uma redução da claudicação, pelo menos durante os primeiros 3 dias, sendo que antes da segunda semana voltou à claudicação inicial. Após a segunda sessão deixou de claudicar na LRPD. No 3º dia da quarta semana voltou a claudicar como no início. Note-se que esta piora que ocorreu a meio da 4ª semana não foi só observada na LRPD, mas também na guia para ambos os lados. Contudo, no início da última semana, antes do tratamento, tanto na LRPD como na guia para o lado esquerdo já não apresentava novamente claudicação, e assim que foi sujeito à última injeção do protocolo também deixou de claudicar na guia para o lado direito.

Proteínas Totais (g/dl) **1,2** → **0,9**

Também neste equino se verificou uma redução significativa das PTs, pelo que se pode concluir que houve uma redução da inflamação articular.

Figura 20 - 3º caso do estudo - original



Cavalo 3

Lusitano

16 anos

Obs: historial de dorsalgia

Membro claudicante: **Membro anterior esquerdo (MAE)**

Exame de selecção

Exame de Claudicação

LR(PD) – 2/5 MAE

Esq – 2/5 MAE

Guia (piso mole)

Dta – 3/5 MAE

Flexão boleto MAE – 75% + (4/5)

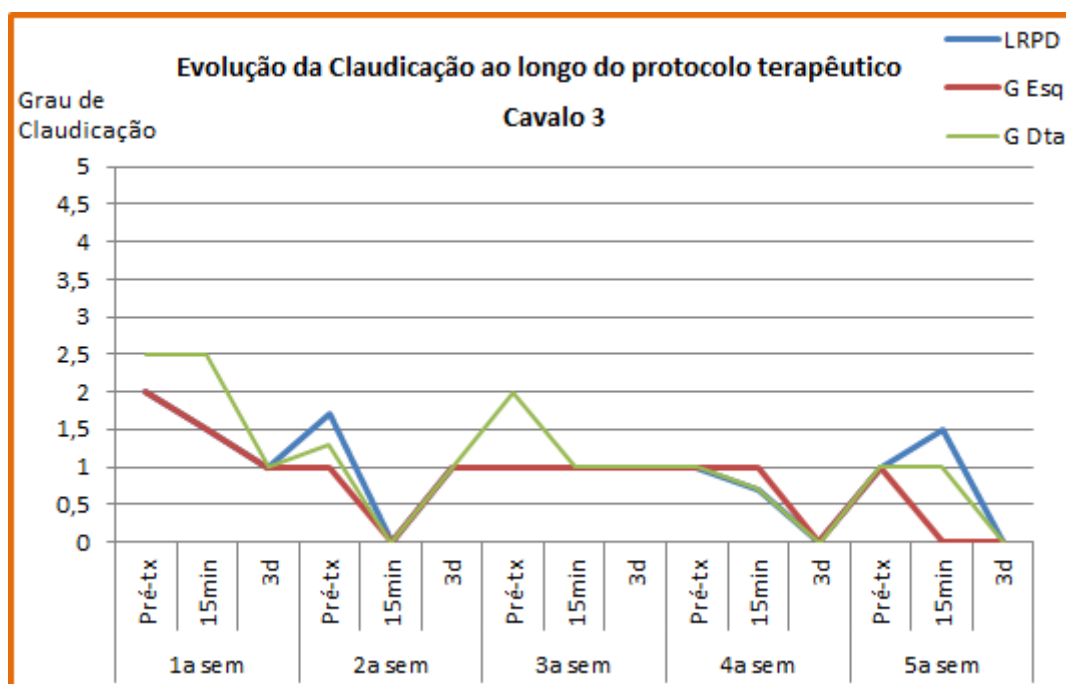
Bloqueios

- [Dig.Palmar](#) (MAE) – sem resposta
- [Abaxial](#) (MAE) – sem resposta
- [4 PB](#) (MAE) – 50 % + (1/5)
- [IA boleto MAE](#) (2d) – 100% +

- Exame Radiológico (Anexo IV):

- LM – desmineralização e remodelação óssea dos côndilos articulares (boleto) medial e lateral do metacarpo III;
- DLPM – osteófito no bordo medial articular da 1ª falange, com irregularidade da margem articular e com desmineralização.

Gráfico 3 - Evolução da claudicação ao longo do protocolo terapêutico - 3º caso



Neste equino, as melhoras começaram por ser logo evidentes na primeira semana.

Durante todo o período de tratamento, à excepção da 4ª semana, verificou-se que no início de cada semana havia uma regressão relativamente à claudicação exibida a meio da semana anterior, mas sempre com tendência a diminuir ao longo das semanas. Na última semana, após o tratamento verificou-se uma pioria da claudicação na LRPD, que associámos ao facto da infiltração intra-articular não ter sido fácil, podendo ter sido algo traumática, não só devido ao reduzido espaço articular mas também pela falta de colaboração do cavalo, que se foi manifestando cada vez mais agitado de tratamento em tratamento, sendo o último o mais problemático.

As melhorias ao longo do protocolo foram muito consistentes, sobretudo na guia para o lado esquerdo, em que se notou uma redução da claudicação logo após o primeiro tratamento e a partir daí não voltou a piorar. Nas últimas duas semanas, ao terceiro dia pós tratamento, o cavalo não manifestou qualquer tipo de claudicação, tendo terminado assim o período do protocolo terapêutico.

Proteínas Totais (g/dl) 0,9 —————> 0,7

Verificou-se uma redução significativa das PTs do líquido sinovial (de 0.9 g/dl para 0.7 g/dl),

Figura 21 - 4º caso do estudo - original



Cavalo 4

Lusitano

16 anos

Membro claudicante: **Membro anterior esquerdo (MAE)**

Exame de selecção

Exame de Claudicação

LR(PD) – 1/5 MAE

Esq – 2/5 MAE

Guia (piso mole)

Dta – 3/5 MAE

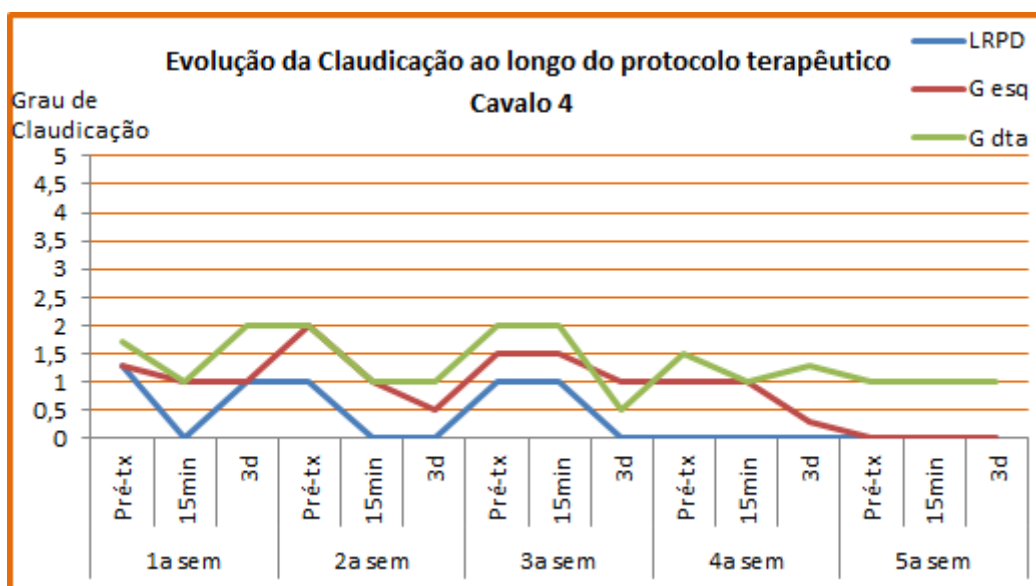
Bloqueios

- [Dig. Palmar](#) (MAE) – sem resposta
- [Abaxial](#) (MAE) – sem resposta
- [4 PB](#) (MAE) – 75 % + (LRPD -0/5; GE – 1/5; GD – 1/5)
- [IA boleto MAE](#) (2d) – 75% + (LRPD – 0/5; GE – 0/5; GD – 1/5)

• Exame Radiológico (Anexo V):

- LM – Remodelação óssea dos côndilos articulares medial e lateral do metacarpo III (boleto);
- Oblíq. DLPM – osteófito do bordo medial articular da 1ª falange (boleto).

Gráfico 4 - Evolução da claudicação ao longo do protocolo terapêutico - 4º caso



Este equino foi o que demonstrou a evolução mais inconstante, com fases positivas intercaladas com negativas. Contudo como se pode observar através do gráfico, ocorreu uma similaridade da evolução da claudicação no que diz respeito às avaliações feitas na guia em comparação com a LRPD.

Na primeira semana, verificou-se uma melhoria imediata, aos 15 minutos após a primeira administração do protocolo, tanto na guia como na LRPD. Contudo, no final da semana a claudicação voltou a piorar, ficando até mais exuberante na guia do que se apresentava antes do início dos tratamentos.

Na segunda semana, voltou a melhorar após a administração intra-articular de ozono, sendo que desta vez reagiu de forma mais positiva, pois a meio da semana (3 dias) tinha reduzido a claudicação, o que não acontecera na semana anterior.

A partir da quarta semana foi quando se notaram as melhorias mais satisfatórias, sendo que no início desta o equino já não claudicava na LRPD.

No início da última semana o cavalo já só apresentava claudicação na guia para o lado direito, que foi desde sempre onde evidenciou maior grau de claudicação.

Este equino melhorou sempre após as administrações. Contudo, voltava novamente a regredir a claudicação, situação que só se deixou de verificar a partir da quarta semana, tendo terminado o protocolo terapêutico sem claudicar na LRPD e na guia para o lado esquerdo.

Proteínas Totais (g/dl) **1,0** → **1,0**

Este equino foi o único que não demonstrou uma diminuição das PTs do líquido sinovial.

11. DISCUSSÃO

Este estudo foi sobretudo experimental devido ao reduzido apoio bibliográfico relativamente à Ozonoterapia intra-articular em equinos. Por essa razão tivemos que adaptar e elaborar um protocolo terapêutico baseado na experiência pessoal e na bibliografia existente acerca de outras espécies. Esta adaptação incluiu a decisão das doses e a sua variação, a durabilidade do protocolo terapêutico, a frequência das administrações, entre outras variantes.

Para além disso, o protocolo poderia ter sido adaptado a cada caso em particular, sobretudo tendo em conta o grau de OA. Contudo, para efeitos de comparação de resultados, a abrangência do protocolo à totalidade da amostra foi a decisão que pareceu mais correcta.

Comparativamente às terapêuticas mais utilizadas nesta patologia, em que após as sessões de tratamento se segue um período de repouso, decidiu-se nesta situação, também baseado na bibliografia e experiência, que os cavalos mantinham o trabalho diário ao longo de todo o protocolo. Esta variante também poderá influenciar a eficácia do tratamento e pode vir a ser um factor muito interessante para estudar no futuro.

Os cavalos utilizados neste estudo, como já foi referenciado anteriormente, são do 3º Esquadrão da GNR e por consequente, utilizados em diversos serviços da mesma instituição. Esta situação exige aos cavalos momentos de esforço intenso. Mais uma variante que poderá não ajudar na efectividade do tratamento.

● Cavalo 1

Neste caso em particular, o equino para além da OA no boleto, também exibia a mesma patologia nas articulações interfalângicas distais, pelo que a claudicação provavelmente nunca irá desaparecer por completo. Ainda assim, este exemplar estava a evoluir positivamente no momento em que terminou o protocolo, pelo que o prolongamento deste talvez fosse positivo, tal como se verificou em alguns casos ortopédicos que ocorreram em cães (Avilés MH, 2013).

● Cavalo 2

Tendo em conta que os cavalos que foram sujeitos a este protocolo mantiveram o trabalho diário ao longo do mesmo, este agravamento ocorrente no 3º dia da quarta semana poderá ter sido originado no decorrer de uma sessão de trabalho mais intensa, uma situação recorrente consoante o programa de actividades da secção de cavalaria da GNR.

Neste caso particular, foi-nos reportado pelo cavaleiro responsável por este equino, sem que tenha sido questionado, que houve uma melhoria significativa na desconstracção e amplitude

de andamentos durante o trabalho. No final do tratamento, este cavalo não apresentava qualquer tipo de claudicação.

- Cavalo 3

Na última semana, após o tratamento verificou-se um agravamento da claudicação na LRPD, que associámos ao facto da infiltração intra-articular não ter sido fácil, podendo ter sido algo traumática, não só devido ao reduzido espaço articular mas também pela falta de colaboração do cavalo, que se foi manifestando cada vez mais agitado de tratamento em tratamento, sendo o último o mais problemático. O historial de dorsalgia recorrente exibida por este equino, terá certamente repercursões na sua dinâmica na locomoção, e consequentemente na patologia em estudo.

- Cavalo 4

Neste caso não houve redução das PTs e a evolução da claudicação foi muito oscilante, o que nos sugere que a resposta deste animal à ozonoterapia pode não ter sido tão eficaz ou que então teria outra patologia que pudesse estar na origem da dor e que não foi diagnosticada. Neste caso, seria interessante tentar a terapia mista de ozono com um córtico intra-articular, PRPs ou ácido hialurónico, como já foi testado em cães e com bons resultados (Avilés M, 2013).

No final do estudo verificou-se uma melhoria significativa da sintomatologia associada à osteoartrite em todos os equinos, e da própria progressão patologia, nomeadamente do grau de inflamação, que se demonstrou diminuído.

12. CONCLUSÃO

Através da análise dos resultados, podemos averiguar que houve melhorias significativas, não só na evolução da claudicação, mas também no grau de inflamação articular que está directamente relacionado com o doseamento das proteínas totais.

Sabe-se, através de estudos efectuados, que tratamentos mistos de ozono com outras opções terapêuticas são bastante eficazes na melhoria de várias patologias, inclusive problemas ortopédicos, como é este caso concreto.

Concluimos com este estudo, que a ozonoterapia intra-articular em equinos pode ser uma alternativa a ter em conta, aos tratamentos mais convencionais. Situação esta que pode ser muito benéfica, tendo em conta a boa margem de segurança adjacente ao uso de ozono medicinal, quando usado nas doses correctas. Pelo que o uso desta molécula poderá vir a ser útil para reduzir doses de outros fármacos e consequentemente, reduzir os seus efeitos secundários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- André, M., Resnick, D. (1996). Computed tomography. In: Resnick, D., ed. Bone and joint imaging, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders, p.70-83.
- American Association of Equine Practitioners (2006). Ann. Med. Vet. Journal.
- Arend, W.P., Dayer, J.M. (1990). Cytokines and cytokine inhibitors or antagonists in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 28, p.853-862.
- Arner, E.C., Pratta, M.A., Trzascos, J.M., et al (1999). Generation and characterization of aggrecanase: a soluble cartilage-derived aggrecan-degrading activity, *Journal of Biological Chemistry.* 274, 6594.
- Associação Espanhola de profissionais médicos de Ozonoterapia (AEPROMO) (2010). SPozonoterapia: Declaração de Madrid sobre Ozonoterapia. Acedido em Julho 27, 2017, em http://www.spozonoterapia.com/pdf/portuguese_declaration.pdf
- Avilés, M.H. (2013). Use of ozone and ozonated growth factors in musculoskeletal disorders of the canine species, *Revista espanhola de ozonoterapia*, 3, p. 95-98.
- Ballardini, E. (2005). Oxygen-Ozone Therapy for Spinal muscle disorders in the horse, *Rivista Italiana di Ossigeno-ozonoterapia*, 4, p. 70-73.
- Bassage, L.H., Ross, M.W. (2011). Diagnostic Analgesia. In: Ross MW & Dyson SJ, *Diagnostic and Management of Lameness in the Horse*, 2nd edition, Philadelphia: Saunders, p.100-113.
- Bassleer, R., Lhoest-Gauthier, M.P., Renard, A.M., et al (1982). Histological structure and junctions of synovium. In: Franchimont P., *Articular synovium*. Basel, Switzerland: Karger.
- Bathon, J.M., Chilton, F.H., Hubbard, W.C., et al (1996). Mechanisms of prostanoid synthesis in human synovial cells: cytokine-peptide synergism, *Inflammation*, 20,537.
- Bertone, A.L., Palmer, J.L., Jones, L. (2001). Synovial fluid cytokines and eicosanoids as markers of joint disease in horses. *Vet. Surg.*, 30, 528-538.
- Bertone, A.L. (2004). Joint Physiology. Responses to exercise and training. In: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ, *Equine sports medicine and surgery: Basic and clinical sciences of the equine athlete*. United Kingdom: Saunders, p. 152-160.
- Billinghurst, R.C., Dahlberg, L., Ionescu, M., et al (1997). Enhanced cleavage of type II collagen by collagenase in osteoarthritic articular cartilage. *J. Clin. Invest.*, 99, p. 1534-1545.
- Billinghurst, R.C. (2003). Biomarkers of joint disease. In: N.E., Robinson, ed. *Current therapy in equine medicine 5*. Philadelphia: W.B. Saunders, p.513-520.
- Bjordal, J.M., Couppé, C., Chow, R.T., et al. (2003). Pubmed: A systematic review of low level laser therapy with location-specific doses for pain from chronic joint disorders. Acedido em Novembro 1, 2017 em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12775206>

- Bluteau, G., Conrozier, T., Mathieu, P., Vignon, E., Herbage, D., and Mallein-Gerin, F. (2001). Matrix metalloproteinase-1, -3, -13 and aggrecanase-1 and -2 are differentially expressed in experimental osteoarthritis. *Biochimica and Biophysica Acta*, 1526, 147-158.
- Bocci, V. (2005). 1 How ozone is generated and its concentrations measured. In: *Ozone, A new Medical Drug*. Netherlands: Springer, p. 9-11.
- Bocci, V. (2005). 2 Ozono, A New Medical Drug. Netherlands: Springer.
- Bocci, V. (2005). 3 Physical-chemical properties of ozone. Natural production of ozone. The toxicology of ozone. In: *Ozone, A new Medical Drug*. Netherlands: Springer, p. 5-8.
- Bocci, V. (2005). 4 Preparation of ozonated water and oil for the topical therapy. Ozone as a drinking water disinfectant. Ozone disinfection to prevent nosocomial infections. In: *A new Medical Drug*. Netherlands: Springer, p. 12-18.
- Bocci, V. (2011). 5 *Ozone, A New Medical Drug*. (2nd edition). Netherlands: Springer.
- Bonica, J.J., Yaksh, J.L., Liesbeskind, J.C., et al (1990). Biochemistry and modulation of nociception and pain. In Bonica, J.J., editor: *The management of pain*. Philadelphia: Lea and Febiger.
- Brandão, F. (2015). Aplicação da ozonoterapia como terapia complementar na desinfecção e cicatrização de feridas traumáticas na extremidade distal de equinos. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Évora: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Évora.
- Brennan, F.M., Chantry, D., Jackson, A., et al (1989). Inhibitory effect of TNF-alpha antibodies on synovial cell interleukin-1 production in rheumatoid arthritis, *The Lancet* 2 (8657): 244.
- Broeckx, S., Zimmerman, M., Crocetti, S. et al. (2014). Researchgate: Regenerative therapies for equine degenerative joint disease. Acedido em Novembro 1, 2017 em https://www.researchgate.net/publication/259919892_Regenerative_Therapies_for_Equine_Degenerative_Joint_Disease_A_Preliminary_Study
- Brommer, H., Rijkenhuizen, A.B., Brama, P.A., Barneveld, A., van Weeren, P.R. (2004). Accuracy of diagnostic arthroscopy for the assessment of cartilage damage in the equine metacarpophalangeal joint. *Equine Vet. J.* 36, p.331-335
- Bruckner, P., Van der Rest, M. (1994). Structure and function of cartilage collagens. *Microsc Research and Technique*, 28,378.
- Buric, J., Rigobello, L. & Hooper, D. (2014). *International Journal of Spinal Surgery*: Five and Ten year follow-up on intradiscal Ozone injection for disc herniation, acedido em Setembro 4, 2017, em <http://ijssurgery.com/10.14444/1017>
- Butler, J.A., Colles, C.M., Dyson, S.J., Hold, S.E., Poulos, P.W. (1993). General principles. In: Butler J.A., Colles C.M., Dyson S.J., Hold S.E., Poulos P.W. (Eds.), *Clinical radiology of the horse*. Oxford: Blackwell, p.1-27.
- Callender, G.R., Kelser, R.A. (1938). Degenerative arthritis: a comparison of the pathological changes in man and equines. *American Journal of Pathology*, 38, p.253.
- Canoso, J. (1981). Bursae, tendons and ligaments, *Clinical Rheumatology Diseases*, 7,189.

- Caron, J.P., Genovese, R.L. (2003). Principles and Practices of joint disease treatment. In: Ross MW, Dyson SJ, Diagnosis and management of lameness in the horse. Philadelphia: Saunders, p. 746-763.
- Caron, J.P. (2011). Osteoarthritis. In Ross MW & Dyson SJ, Diagnostic and Management of Lameness in the Horse, 2nd edition, Philadelphia: Saunders, p. 655-668.
- Carstanjen, B., Sulon, J., Bauga-Mboko, H., Beckers, J.F., Remy, B. (2003). Development and validation of a specific radioimmunoassay for equine osteocalcin. Domest. Anim. Endocrinol, 24, p.31-41.
- Chubinskaya, S., Kuettner, K.E., Cole, A.A (1999). Expression of matrix metalloproteinases in normal and damaged articular cartilage from human knee and ankle joints. Lab. Invest. 79, 1669-1677.
- Chunekamrai, S., Krook, L.P., Lust, G., et al (1989). Changes in articular cartilage after intra-articular infections of methylprednisolone acetate in horses. Am. J. Vet. Res. 50, p.1733.
- Citizen's Council for Truth in Medicine (2012). Oxygenmedicine: Veterinary use of ozone. Acedido em Setembro 2, 2017, em <http://www.ecosafeusa.com/documents/Ozone%20Documentation/Veterinary/Vet%20Use%20of%20Ozone.pdf>
- Clegg, P.D., Burke, R.M., Coughlan, A.R., et al (1997). Characterization of equine matrix metalloproteinase 2 and 9; and identification of the cellular sources of these enzymes in joint. Equine Vet. Journal, 29,335.
- Clegg, P.D., Jones, M.D., Carter, S.D. (1998). The effects of drugs commonly used in the treatment of equine articular disorders on the activity of equine matrix metalloproteinases-2 and 9. J. Vet. Pharmacol. Ther. 21, p.406-413.
- Cornell University College of Veterinary Medicine (2013). Cytology, Synovial fluid. Acedido em Outubro 21, 2017, em <http://www.eclinpath.com/cytology/synovial-fluid/>
- Cortet, B., Flipo, R.M., Pigny, P., et al (1997). How useful are bone turnover markers in rheumatoid arthritis? Influence of disease activity in corticosteroid therapy. Rev. Rhum. Engl. Ed., 64, p.153-159.
- Cruz, H. (2014). Equisport: Claudicação e osteoartrite em cavalos. Acedido em Set. 2, 2017, em <https://www.equisport.pt/artigos/dica-do-mes-claudicacao-e-osteoartrite-em-cavalos/>
- Curtin, W.A., Reville, W.J., (1995). Ultrastructural observations on fibril profiles in normal and degenerative human articular cartilage, Clin. Orthop. 313, 224.
- Dayer, J.M., Rochemonteix, B., Burrus, B., et al (1986). Human recombinant interleukin-1 stimulates collagenase and prostaglandin E2, production by human synovial cells. J. Clin. Invest. 77, 645-648.
- Denoix, J.M. (1996). Ultrasonographic examination in the diagnosis of joint disease. In: McIlwraith C.W., Trotter G.W. (Eds), Joint disease in the horse. Philadelphia: Saunders, p.165-202.

- Denoix, J.M., Valette, J.P., Robert, C., Bousseau, B., Perrot, P., Keiles, P., Houliez, D., Audigie, F., Moureau, H., Blanchard, L., Neiman, L., Touzout, G., Busoni, V., Gutton, E., Tavernier, L. (1997). Etude radiographique des affections ostéo-articulaires juvéniles (AOAJ) chez des chevaux de races françaises âges de 3 ans: présentation globale des résultats sur 761 sujets. Bull. Soc. Vet. Prat. France, 81, 53-70.
- Douglas, J. (2011). Pathogenesis of Osteocondrosis. In: Ross MW & Dyson SJ, Diagnostic and Management of Lameness in the Horse, 2nd edition, Philadelphia: Saunders, p. 625.
- Dyson, S.D., Murray, R. (2006). Osseous trauma in the fetlock region of mature sport horses. In: AAEP Proceedings.
- Dyson, S.J. (2011). Radiography and Radiology. In: Ross MW & Dyson SJ, Diagnostic and Management of Lameness in the Horse, 2nd edition, Philadelphia: Saunders, p.168-182.
- Ekman, S., Skioldebrand, E., Heinegard, D., Hultenby, K. (2005). Ultrastructural immunolocalisation of bone sialoprotein in the osteocartilagenous interface of the equine third carpal bone. Equine Vet. J., 37, p.26-30.
- Equigerminal (2014). Equigerminal: Genética equina. Acedido em Set. 2, 2017, em <http://equigerminal.org/pt-pt/genetica-equina-1/>
- Farahat, M.N., Yanni, G., Poston, R., et al (1993). Cytokine expression in synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis, Ann. Rheum. Dis. 52,870.
- Fernandes, V. (2011). Slideshare: Anatomia descritiva animal, Anatomia Articular. Acedido em Outubro 6, 2017 em <https://pt.slideshare.net/VicenteFernandes/sistema-articular-anatomia-veterinaria>
- Ferrari, P.A.P, Pacheco, M.D., Montanha, F.P. (2011). Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária: Métodos de diagnóstico da claudicação equina – revisão de literatura. Acedido em: Outubro 3, 2017 em http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/nkMZXocqrZOUB4j_2013-6-26-11-0-47.pdf
- Flannery, C.R., Little, C.B., Caterson, B., et al (1999). Effects of culture conditions and exposure to catabolic stimulators (IL-1 and retinoic acid) on the expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and disintegrin metalloproteinases (ADAMs) by articular cartilage chondrocytes, Matrix Biology Journal. 18, 225.
- Frean, S.P., Bryant, C.E., Froling, I.L., et al (1997). Nitric oxide production by equine articular cells in vitro, Equine Vet. J. 29, 98.
- Frisbie, D.D., Ray, C.S., Ionescu, M. et al (1999). Measurement of the 846 epitope of chondroitine sulfate and carboxi propeptides of type II procollagen for diagnosis of osteochondral fragmentation in horses. Am. J. Vet. Res., 60, p.306-309.
- Frisbie, D.D., Kawcak, C.E., Trotter, G.W., et al (2000). Evaluation of gene therapy as a treatment for equine traumatic arthritis and osteoarthritis. Clin. Orthop. 3795, p.5273-5287.

- Frisbie, D.D., Al-Sobayil, Billingham, C., McIlwraith, C.W. (2003). Synovial fluid biomarkers distinguish exercise from osteoarthritic pathology. 49th annual convention of the AAEP.
- Frisbie, D.D., Kawcak, C.E., McIlwraith, C.W. (2004). Evaluation of extracorporeal shock wave therapy for osteoarthritis. 50th annual convention of the AAEP.
- Frisbie, D.D. (2007). Novel therapy of acute joint injuries. AAEP, Focus on lameness and imaging.
- Frisbie, D.D. (2011). Science direct: Stem cells for equine joint disease. Acedido em Outubro 30, 2017 em <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023313001895>
- Garcia, C., Stanziola, L., Oliveira, O., Andrade, R., Cabariti, L., Anjos, L., Cubas, J. (2014). Eficiência da ozonioterapia na regeneração de lesões cutâneas em equinos – relato de caso. Faculdade de Medicina Veterinária – UFU.
- Garnero, P., Jouvenne, P., Buchs, N., et al (1999). Uncoupling of bone metabolism in rheumatoid arthritis patients with or without joint destruction: assessment of serum type I collagen breakdown products. Bone, 24, p.381-385.
- Ghadially, F.N., Roy, S. (1969). Ultrastructure of synovial joints in health and disease. London: Butterworth.
- Geffroy, O., Courouge, A., Valette, J.P., Kraft, E. (1997). Pathologie ostéo-articulaire juvénile chez le cheval trotteur française: étude préliminaire. Pract. Vet. Equine, 29, 191-199.
- Goldring, M.B., Birkhead, J., Sandell, L.J., et al (1988). Interleukin-1 suppresses expression of cartilage specific types II and IX collagens and increases types I and III collagens in human chondrocytes, J. Clin. Invest. 82, 2026.
- Grainger, R., Cicuttini, F.M. (2004). VMC: Osteoarthritis. Acedido em Agosto 27, 2017 em <https://www.myvmc.com/diseases/osteoarthritis/>
- Gray, R.G., Tenenbaum, J., Gottlieb, N.L. (1981). Local corticosteroid treatment in rheumatic disorders. Semim. Arthritis Rheum. 10, p.231.
- Greenwald, R., Moy, W. (1979). Inhibition of collagen gelatinase by actions of the superoxide radical. Arthritis Rheum. 22, 251-259.
- Haapala, J., Arokoki, J.P., Ronkko, S., Agren, U., Kosma, V.M., Lohmander, L.S., Tammi, M., Helminen, H.J., Kiviranta, I. (2001). Decline after immobilization and recovery after remobilization of synovial fluid IL1, TIMP and chondroitin sulphate levels in young beagle dogs. Ann. Rheum. Dis. 60, 55-60.
- Han, H.J., Jang, H.Y., Kim, J.Y., Choi, S.H., Jang S.K., Lee, B., Yoon, J.H. & Jeong, S.W. (2007). Researchgate: Fluoroscopic guide intradiscal oxygen-ozone injection therapy for thoracolumbar intervertebral disc herniation in dogs, acedido em Setembro 4, 2017, em https://www.researchgate.net/publication/6132292_Fluoroscopic-guided_intradiscal_oxygen-ozone_injection_therapy_for_thoracolumbar_intervertebral_disc_herniations_in_dogs

- Hawkins, D.L., Mackay, R.J., Gum, G.G., et al (1993). Effects of intra-articularly administered endotoxin on clinical signs of disease and synovial fluid tumor necrosis factor, interleukin 6, and prostaglandin E2 values in horses, *Am. J. Vet.* 54, 379.
- Hvid, I. (1988). Mechanical strength of trabecular bone at the knee, *Dan Med Bull*, 35,345.
- Ishijima, M., Kaneko, H., Kaneko, K. (2014). Pubmed: The evolving role of biomarkers for OA. Acedido em Outubro 23, 2017 em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25342994>
- Kaneps, A.J. (2004). Diagnosis of lameness. In: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ. *Equine sports medicine and surgery. Basic and clinical sciences of the equine athlete*. United Kingdom: Saunders, 247-259.
- Kawcak, C.E., Frisbie, D.D., McIlwraith, C.W., et al (1997). Effects of intravenous administration of sodium hyaluronate on carpal joints in exercising horses after arthroscopic surgery and osteochondral fragmentation. *Am. J.Vet.Res.* 59, p.1132-1140.
- Kawcak, C.E., Frisbie, D.D., McIlwraith, C.W. (2011). *American Journal of Equine Research: Effects of extracorporeal shock wave therapy and polysulfated glycosaminoglycan treatment on subchondral bone, serum biomarkers, and synovial fluid biomarkers in horses with induced osteoarthritis*. Acedido em Outubro 28, 2017 em <https://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/ajvr.72.6.772?journalCode=ajvr>
- Landoni, M.F., Foot, R., Freen, S., et al (1996). Effects of flunixin, tolafenamic acid, R(-) and S(+) ketoprofen on the response of equine synoviocytes to lipopolysaccharide stimulation, *Equine Vet. Journal* 28,468.
- Larson, E. (2012). MRI to identify bone changes in racehorses. In: *AAEP Proceedings*.
- Lees, P., May, S.A., White, D. (1990). Pharmacokinetics and dosage regimens of antiinflammatory drugs. *Ann. Rech. Vet* 21 (suppl1): 735
- Lejeune, J.P., Schneider, N., Henrotin, Y., Serteyn, D. (2006). L'osteo-arthropathie dégénérative du cheval: pathogénie et moyens diagnostiques. *Ann. Méd. Vêt.*, 173-192.
- Levick, J.R. (1984). Blood flow and mass transport in synovial joints. In: Renkin, E.M., Michel, C.C., eds. *Handbook of physiology, the cardiovascular system 1*. Baltimore: American Physiology Society, p.917-947.
- Lipowitz, A.J. (1985). Newton, C.D., Nunamaker, D.N., *Textbook of Small Animal Orthopaedics: Synovial fluid*. Hardcover. Acedido em Outubro 4, 2017 em http://cal.vet.upenn.edu/projects/saortho/chapter_86/86mast.htm
- Lipowitz, A.J. (1998). *Manual de cirurgia de pequenos animais: Afecções articular degenerativa*. (2ª edição). São Paulo: Manole, v.2, p.2266-2273.
- Lippiello, L., Yamamoto, K., Robinson, D., et al (1978). Involvement of prostaglandin from rheumatoid synovium and inhibition of articular cartilage metabolism, *Arthritis Rheum.* 21,909.

- Little, C.B., Flannery, C.R., Hughes, C.E., et al (1999). Aggrecanase versus matrix metalloproteinases in the catabolism of the interglobular domain of aggrecan in vitro, *Biochem. Journal*, 344, 161.
- Lynch, T.M., Caron, J.P., Annoczky, S.P., et al (1998). Influence of exogenous hyaluronan on synthesis of hyaluronan and collagenase by equine synoviocytes. *Am. J. Vet. Res.* 59, p.888-892.
- Machado, V.M.V., Aguiar, A.C.S., Viana, G.F., Crosignani, N.O., Puoli, J.N.P. (2016). Diagnostic value of computed tomography, radiography and ultrasonography in metacarpophalangeal joint disorders in horses. Acedido em Outubro 20, 2017, em <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v68n1/0102-0935-abmvz-68-01-00066.pdf>
- Mankin, H.J., Lippiello, L. (1971). The glycosaminoglycans of normal and arthritic cartilage, *The Journal of Clinical Investigation*, 50,1712.
- Mankin, H.J., Radin, E.L. (1997). Structure and function of joints. In: Koopman WJ, editor: *Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology*, ed. 13, vol. 1, Baltimore: Williams and Wilkins.
- Mankin, H.J., Brandt, K.D. (2001). Pathogenesis of osteoarthritis. In: Ruddy S, Harris ED, Sledge CB, editors: *textbook of rheumatology*, 6th edition, vol. 1, Philadelphia: WB Saunders.
- Maroudas, A., Ziv, I., Weisman, N., et al (1985). Studies of hydration and swelling pressure in normal and osteoarthritic cartilage, *Biorheology* 22,159.
- Martel-Pelletier, J., Cloutier, J.M., Pelletier, J.P. (1986). Neutral proteases in human osteoarthritic synovium, *Arthritis Rheumatology*, 29,1112.
- Masferrer, J.L., Seibert, K. (1994). Regulation of prostaglandin synthesis by glucocorticoids. *Receptor* 4, p.25.
- May, S.A., Hooke, R.E., Lees, P. (1992). Interleukin-1 stimulation of equine articular cells, *Res. Vet. Sci.* 52,342.
- May, S.A., Lees, P. (1996). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. In McIlwraith, C.W., Trotter, G.W., editors: *joint disease in the horse*. Philadelphia, W.B., Saunders.
- McIlwraith, C.W. (1982). Current concepts in equine degenerative joint disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 180, p.239-250.
- McIlwraith, C.W. (1996). General pathobiology of the joint and response to injury. In: McIlwraith CW, Trotter GW (Eds.), *Joint Disease in the Horse*. Philadelphia: Saunders, 4070.
- McIlwraith, C.W. (2001). Disease processes of synovial membrane, fibroses capsule, ligaments and articular cartilage. *AAEP Proc.*, 47, p.142-156.
- McIlwraith, C.W. (2002). Diseases of joints, tendons, ligaments and related structures. In: Stashak TS, Adams' lameness in horses, 5th edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.459-644.
- McIlwraith, C.W. (2005). From arthroscopy to gene therapy – 30 years of looking in joint. *AAEP Proceedings*, Vol.51, p.65-113.


- McIlwraith, C.W. (2008). Equine Healthcare: a roundtable discussion on chondroprotective agentes. Acedido em Outubro 27, 2017 em http://d1uhp0uy75me04.cloudfront.net/mmah/59/bedcbdaf724fb88794ad66d32ff7dc/fileNutramax_RT_v3no2a_0308.pdf
- Mckay-Smith, M.P. (1962). Pathogenesis and pathology of equine osteoarthritis. Journal of the American Veterinary Association, 141, 1246.
- Mckie, N., Edwards, T., Dallas, D.J., et al (1997). Expression of members of a novel membrane linked metalloproteinase family (ADAM) in human articular chondrocytes, Biochem. Biophys Res. Commun. 230,335.
- Mehindate, K., al-Daccak, R., Aoucljit, F., et al (1996). Interleukin-4, transforming growth factor beta-1, and dexamethasone inhibit superantigen – induced prostaglandin E2 – dependent collagenase gene expression through their action on cyclooxygenase-2 and cytosolic phospholipase A2, Lab. Invest. 75,529.
- Miranda, M.S. (2012). Avaliação das alterações clínicas e ecográficas de articulações de equídeos acometidos por osteoartrite, e a sua relação com a evolução após tratamento. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Moore, R.M., Walesby, H.A. (2004). Pharmacotherapy of the joint and tendon disease. In: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ. Equine sports medicine and surgery. Basic and clinical sciences of the equine athlete. Saunders: United Kingdom, p.486-514.
- Murphy, G., Hembry, R.M., Huges, C.E., Fosang, A.J., Hardingham, T.E. (1990). Role and regulation of metalloproteinases in connective tissue turnover. Biochemical Social Transactions, 18, 812-815.
- Nagase, J., Woessner, J.F. Jr. (1993). Role of endogenous proteinases in degradation of cartilage matrix. In: Woessner JF Jr, Howell DS, editor: joint cartilage degradation: basic and clinical aspects, New York, Marcel Dekker.
- New Animal Drug Application [NADA] (2014). Freedom of information summary: Tildren. Acedido em Outubro 27, 2017 em <https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/Products/ApprovedAnimalDrugProducts/FOIADrugSummaries/UCM396896.pdf>
- Oegema, T.R. Jr., Behrens, F. (1981). Proteoglycan synthesis in normal and cronicly hydrocortisone-suppressed rabbit articular cartilage. Arch. Biochem. Biophys. 206, p.277.
- Orsini, J.A., Divers, T.J. (2003). Manual of equine emergencies. Treatment and procedures. Philadelphia: Saunders, p. 104-107.
- Otani, K., Nita, I., Macaulay, W., et al (1996). Suppression of antigen-induced arthritis in rabbits by ex vivo gene therapy. J. Immunol. 156, p. 3558-3562.
- Palmer, J., Bertone, A.L. (1994). Joint structure: biochemistry and biochemical disequilibrium in synovitis and equine joint disease. Equine Vet. J., 26, 263-277.

- Pelletier, J.P., McCollum, R., Cloutier, J.M., et al (1991). Synthesis of metalloproteases and interleukin-6 (IL-6) in human osteoarthritic synovial membrane is an IL-1 mediated process, *J. Rheumatology* 43, 109.
- Piazza, L., Luza, M., Libardoni, T., Stapai, E. & Santos, G. (2012). Efdesportes: efeitos do exercício físico sobre a cartilagem articular. Acedido em Outubro 6, 2017 em <http://www.efdesportes.com/efd170/exercicio-fisico-sobre-a-cartilagem-articular.htm>
- Piermattei, D. L., Flo, G. L. (1999). Manual de ortopedia e tratamento das fraturas dos pequenos animais: Artrologia. (3ª edição). São Paulo: Manole, p.161-187.
- Platt, T. (1996). Articular cartilage homeostasis and the role of growth factors and cytokines in regulating matrix composition. In: McIlwraith, C.W., Trotter GW, editors: joints disease in the horse, Philadelphia: WB Saunders.
- Poole, C.A., Flint, M.H., Beaumont, B.W. (1995). Analysis of the morphology and function of primary ciliarin connective tissues: a cellular cybernetic probe. *Cell Motil*, 5, 175-193.
- Poole, A.R. (1997). Cartilage in health and disease. In: Koopman WJ, editor: Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology, ed. 13, vol. 1, Baltimore: Williams and Wilkins.
- Price, J.S., Symons, J.A., Russel, R.G.G. (1992). Cytokines: inflammatory mediators of joint disease. *Equine Vet. J.* 24, p.78-80.
- Punzi, L., Oliveira, F., Plebani, M. (2005). New biochemical insights into the pathogenesis of osteoarthritis and the role of laboratory investigations in clinical assessment. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 42, p.279-309.
- Raker, C.W., Baker, R.H., Wheat, J.D. (1966). Pathophysiology of equine degenerative joint disease and lameness. *Proceedings of 12th Annual Meeting AAEP*, 229-241.
- Redding, W.R. (2001). Use of ultrasonography in the evaluation of joint disease in horses. Part. 1: Indications, technique and examination of the soft tissues. *Equine Vet. Educ.*, 13, 198-204.
- Richardson, D.W., Dodge, G.R. (2000). Effects of interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha on expression of matrix-related genes by cultured equine articular chondrocytes. *Ann. J. Vet. Res.* 61, 624-630.
- Roberts, G.D., Graham, J.P. (2001). Computed radiography. *Vet. Clin. North. Am.: Equine Pract.* 17: 47-62.
- Roberts, C.R., Roughley, P.J., Mort, J.S. (1989). Degradation of human proteoglycan aggregate induced by hydrogen peroxide: protein fragmentation, aminoacid modification and hyaluronic acid cleavage, *Biochem. Journal* 259,805.
- Rocha, F.R.J. (2008). Osteoartrite em equinos. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Ross, M.W., McIlwraith, C.W. (2011). Conformation and lameness. In: Ross MW & Dyson SJ, *Diagnostic and Management of Lameness in the Horse*, 2nd edition, Philadelphia: Saunders, p. 15-32.

- Ross, M.W. (2011). Lameness Examination, historical perspective. In: Ross MW & Dyson SJ, Diagnostic and Management of Lameness in the Horse, 2nd edition, Philadelphia: Saunders, p. 1-9.
- Ross, M.W. (2011). Manipulation. In: Ross MW & Dyson SJ, Diagnostic and Management of Lameness in the Horse, 2nd edition, Philadelphia: Saunders, p.80-82.
- Ross, M.W. (2011). Movement. In: Ross MW & Dyson SJ, Diagnostic and Management of Lameness in the Horse, 2nd edition, Philadelphia: Saunders, p.64-79.
- Ross, M.W. (2011). Palpation. In: Ross MW & Dyson SJ, Diagnostic and Management of Lameness in the Horse, 2nd edition, Philadelphia: Saunders, p.44-63.
- Salazar de Oliveira, A.R.P. (2015). IRAP no Tratamento da Osteoartrite Equina. Relatório Final de Estágio de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Porto: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto.
- Salisbury, C., Sharif, M. (1997). Relations between synovial fluid and serum concentrations of osteocalcin and other markers of joint tissue turnover in the knee joint compared to peripheral blood. *Ann. Rheum. Dis.*, 56, p.558-561.
- Schwartz, A., Martínez-Sánchez, G. (2012). La ozonoterapia y su fundamentación científica. In: *Revista Espanola de Ozonoterapia. AEPRMO*. Volume 2, p. 163 – 198
- Shingu, M., Isayama, T., Yasutake, C., et al (1994). Role of oxygen radicals and IL-6 dependent matrix degradation, *Inflammation*, 18, p. 613.
- Sledge, C.B., Hari Reddi, A., Walsh, D.A., et al (2001). Biology of the normal joint. In: Ruddy S, Harris ED, Sledge CB, *Textbook of rheumatology*, 6th edition. Philadelphia: WB Saunders.
- Sociedade Portuguesa de Medicina Nuclear (2012). Cintigrafia. Acedido em Outubro 21, 2017, em <http://www.spmn.org/page06pt.asp>
- Sociedade Portuguesa de Ozonoterapia (2015). SPozonoterapia: Aplicações Clínicas. Acedido em Agosto 17, 2017, em http://spozonoterapia.pt/?page_id=89
- Steinberg, J.J., Hubbard, J.R., Sledge, CB (1993). Chondrocyte – mediated breakdown of cartilage, *J. Rheumatol.* 20,325.
- Stevens, C.R., Mapp, P.I., Revell, P.A. (1990). A monoclonal antibody (Mab67) marks type B synoviocytes, *Rheumatology International*. Springer, 10,103.
- Storz, K. (2017). Artrosopia em equinos no consultório veterinário. Acedido em Outubro 10, 2017, em https://www.karlstorz.com/cps/rde/xbcr/karlstorz_assets/ASSETS/2165000.pdf
- Teixeira, D.C. (2011). Alterações Radiográficas e Ecográficas de Osteoartrite na articulação metacarpo-falângica em cavalos de desporto. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Thonar, E.J.-M.A., Lenz, M.E., Masuka, K., et al (1999). Body fluid markers of cartilage metabolism. *Dynamics of bone and cartilage metabolism*. New York: Academic Press, p.453-464.

- Tietz, C.C., Chrisman, O.D. (1975). The effect of salicylate and chloroquine on prostaglandin – induced articular damage in the rabbit knee, *Clin. Orthopaedics* 108, 264.
- Todhunter, R.J. (1992). *Equine surgery: Synovial joint anatomy, biology and pathobiology*. Edição: J.A. Arner,.Philadelphia: W.B. Saunders, p.844-866.
- Todhunter, R.J. (1996). Anatomy and physiology of synovial joints. In: McIlwraith CW, Trotter GW, eds. *Joint disease in the horse*. Philadelphia: WB Saunders, 1-40.
- Toyras, J., Nieminen, H.J., Laasanen, M.S., Nieminen, M.T., Korkhonen, R.K., Rieppo, J., Hirvonen, J., Helminen, H.J., Jurvelin, J.S. (2002). Ultrasonic characterization of articular cartilage. *Biorheology*, 39, 161-169.
- Trotter, G.W. (1996). Intra-articular corticosteroids. In. McIlwraith, C.W., Trotter, G.W., editors: *joint disease in the horse*. Philadelphia: W.B. Saunders.
- Trumble, T.N., Trotter, G.W., Oxford, J.R., McIlwraith, C.W., Cammarata, S., Goodnight, J.L., Billingham, R.C., Frisbie, D.D. (2001). Synovial fluid gelatinase concentrations and matrix metalloproteinases and cytokine expression in naturally occurring joint disease in horses. *Am. J. Vet. Res.* 62, 1467-1477.
- Tucker, R.L., Sande, R.D. (2001). Computed tomography and magnetic resonance imaging in equine musculoskeletal conditions. *Vet. Clin. North Am.: Equine Pract.* 17, p.145-157.
- Ueltshi, G. (1997). Bone and joint imaging with 99m Tc labeled phosphates as a new diagnostic aid in veterinary orthopedics. *J. Am. Vet. Radiol. Soc.* 18, p. 80-84.
- Viebahn-Haensler, R. (2002). Fundamental Aspects and Prerequisites for the use of ozone/oxygen mixtures in medicine. In: *The use of ozone in medicine*. (4th edition). USA: Wileyblackwell, p. 13-51.
- Viebahn-Haensler, R. (2002). Indications for ozone therapy. In: *The use of ozone in medicine*. (4th edition).USA: Wiley-blackwell, p. 72-80.
- Viebahn-Haensler, R. (2002) Recommended dosages and treatment frequencies depending on indication and application method. In: *The use of ozone in medicine*. (4th edition). USA: Wileyblackwell, p. 136-143.
- Viebahn-Haensler, R. (2002) The mechanism of action of medical ozone. In: *The use of ozone in medicine*. (4th edition). USA: Wiley-blackwell, p. 103-134.
- Weller, R., Sinclair, C. (2013). *Equine Diagnostic Imaging*. Acedido em Outubro 6, 2017 em <https://veteriankey.com/equine-diagnostic-imaging/>
- Whitton, C., Murray, R.C., Dyson, S.J. (2003). Magnetic resonance imaging. In: Ross MW, Dyson SJ (Eds.), *Diagnosis and management of lameness in the horse*. Philadelphia: Saunders, p.216-222.
- Wilkinson, L.S., Pitsillides, A.A., Worral, J.G., et al (1992). Light microscopic characterization of the fibroblast-like synovial intimal cell (synoviocyte), *Arthritis Rheumatology*, 35,119.
- Wood, D.D., Ihrie, E.J., Hamerman, D. (1985). Release of interleukin-1 from human synovial tissue in vitro. *Arthritis Rheum.* 28, 853-862.

ANEXO I – EXAME DE CLAUDICAÇÃO AO LONGO DO PROTOCOLO TERAPÊUTICO




Exame Claudicação

ção

(ao longo do protocolo de tratamento)

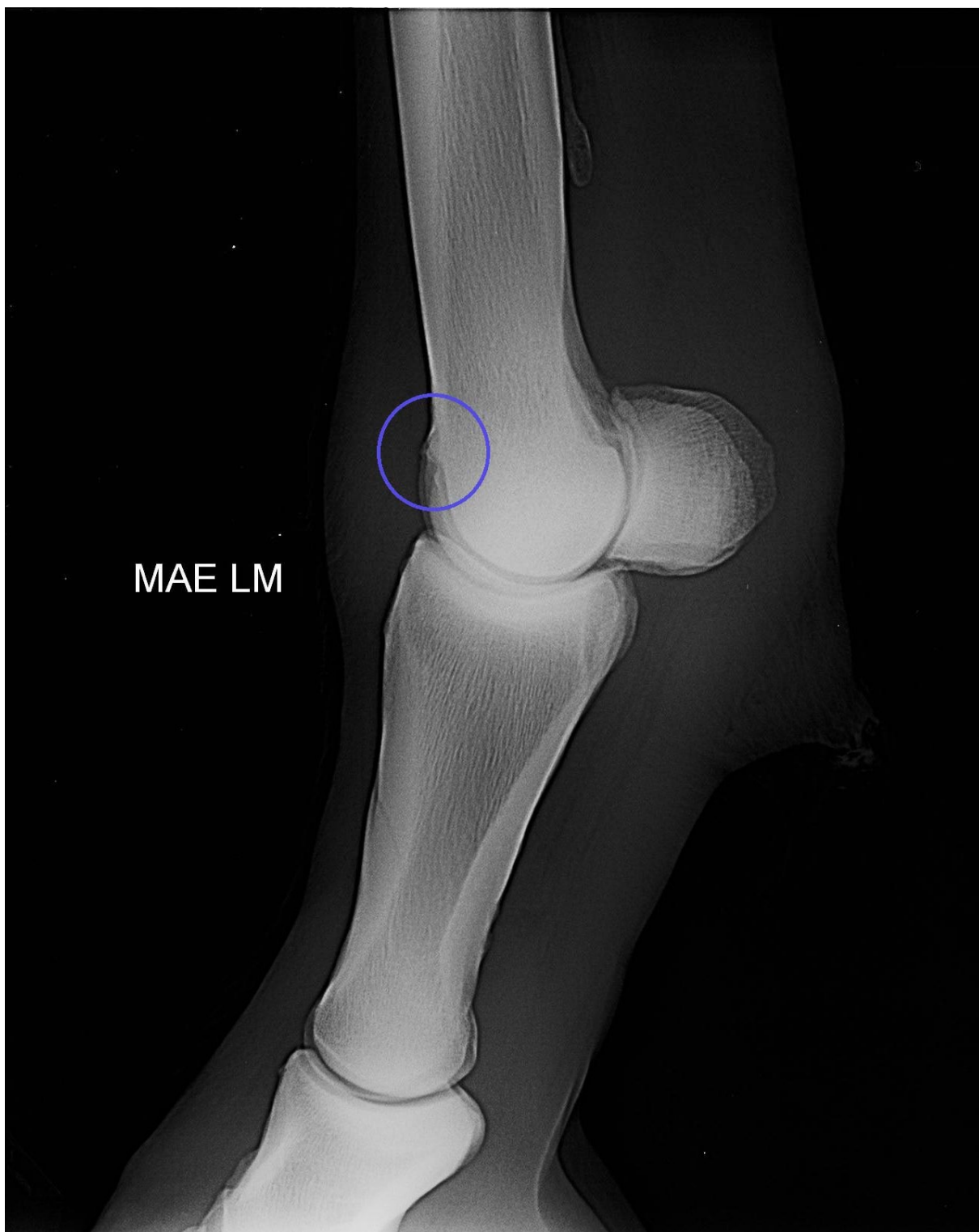
Nome do Equino:
Avaliador:



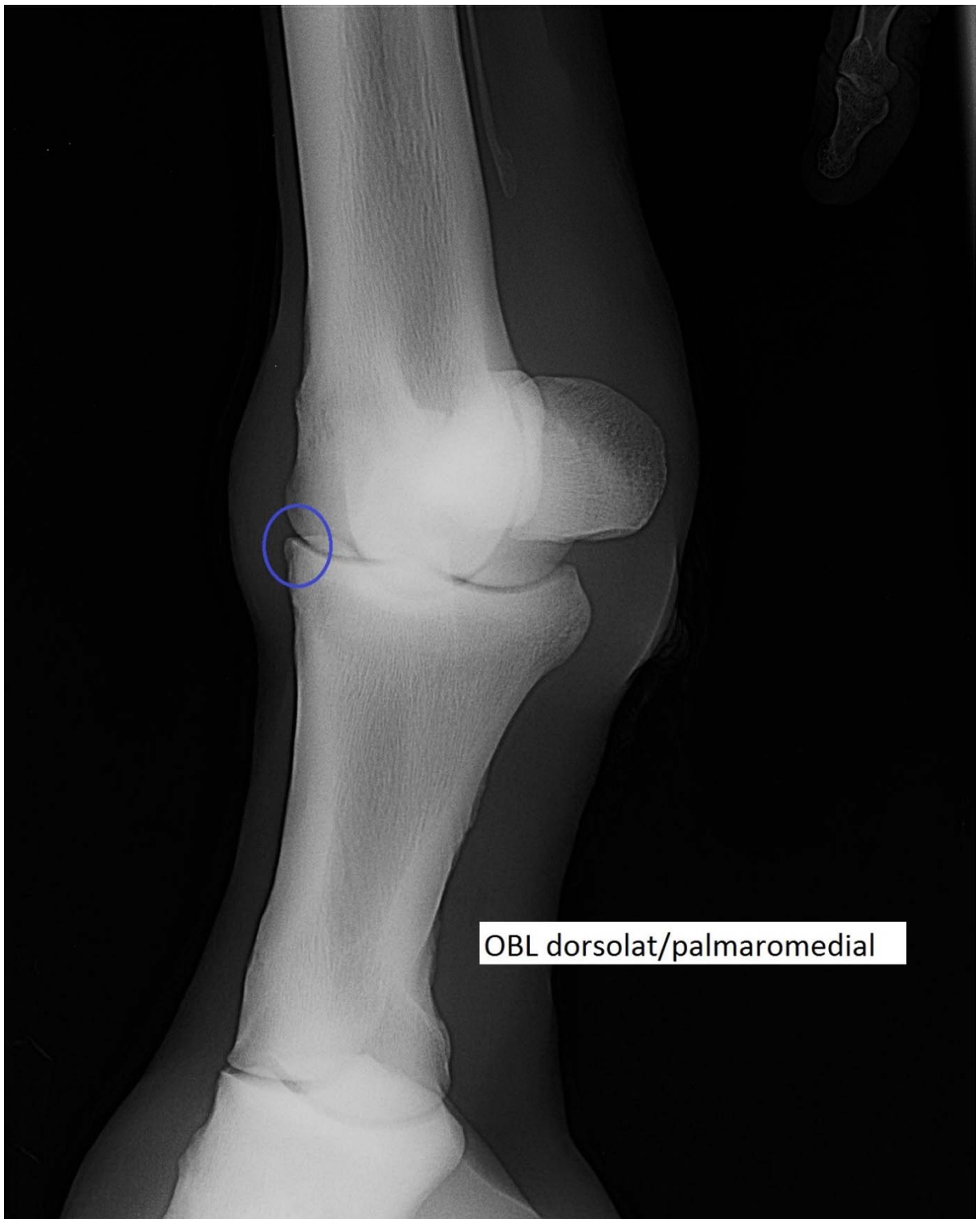
		MAE	MAO	MPE	MPO	
1ª semana						
	Exame pré-tratamento	Rota (piso ou rol)				
		Guia				
		D				
Dose:						
Líquido sinovial	15 ml antes do pós-tratamento	Rota (piso ou rol)				
Cór:		Guia				
		D				
Viscosidade:						
Cél. in fl.						
Proteína:						
2ª semana						
	Exame pré-tratamento	Rota (piso ou rol)				
		Guia				
		D				
Dose:						
Líquido sinovial	15 ml antes do pós-tratamento	Rota (piso ou rol)				
Cór:		Guia				
		D				
Viscosidade:						
Cél. in fl.						
Proteína:						



Incidência DP – Caso 1



Incidência LM – Caso 1



Incidência Oblíqua DLPM – Caso 1



Incidência Oblíqua DMPL – Caso 1



Incidência DP – Caso 2



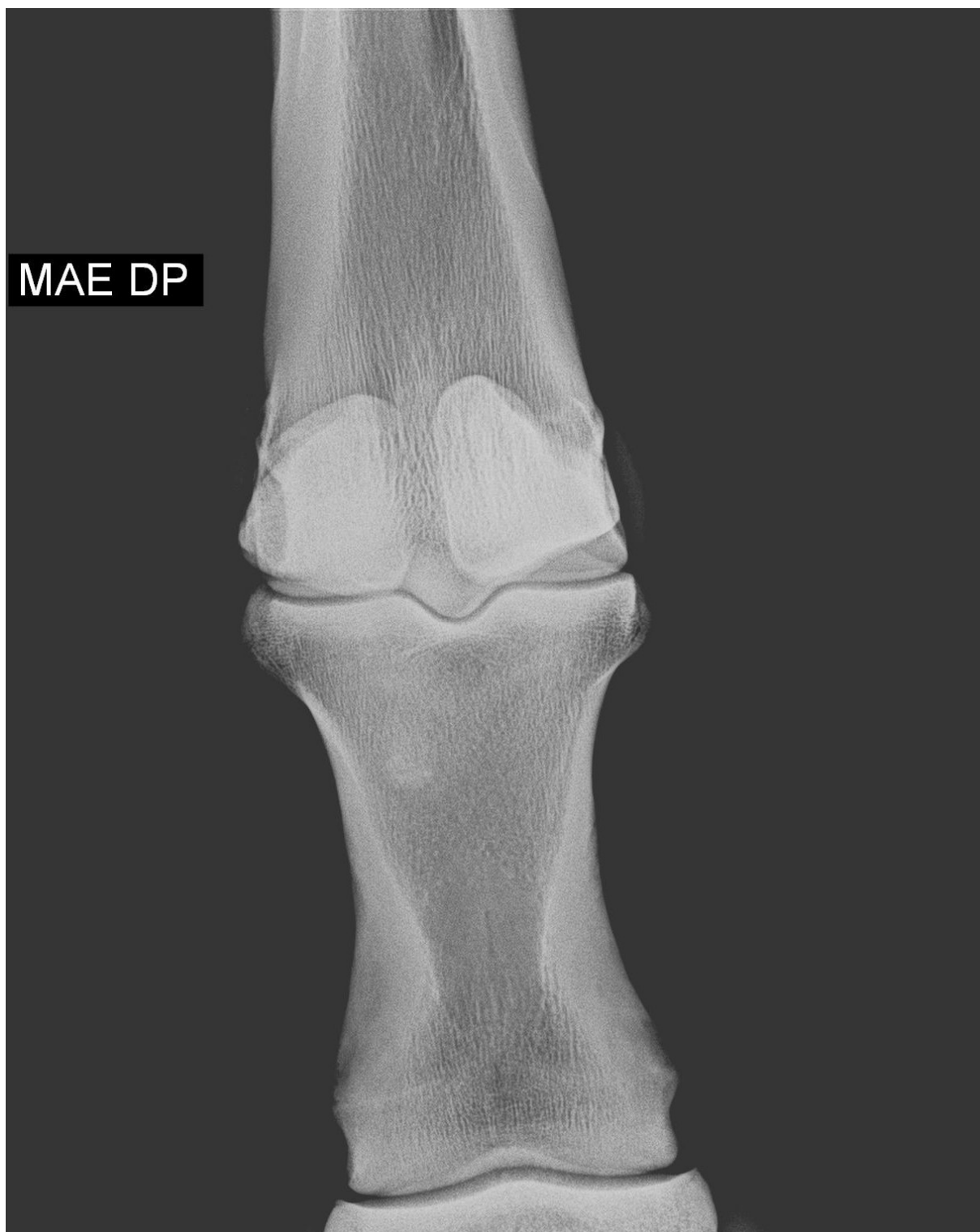
Incidência LM – Caso 2



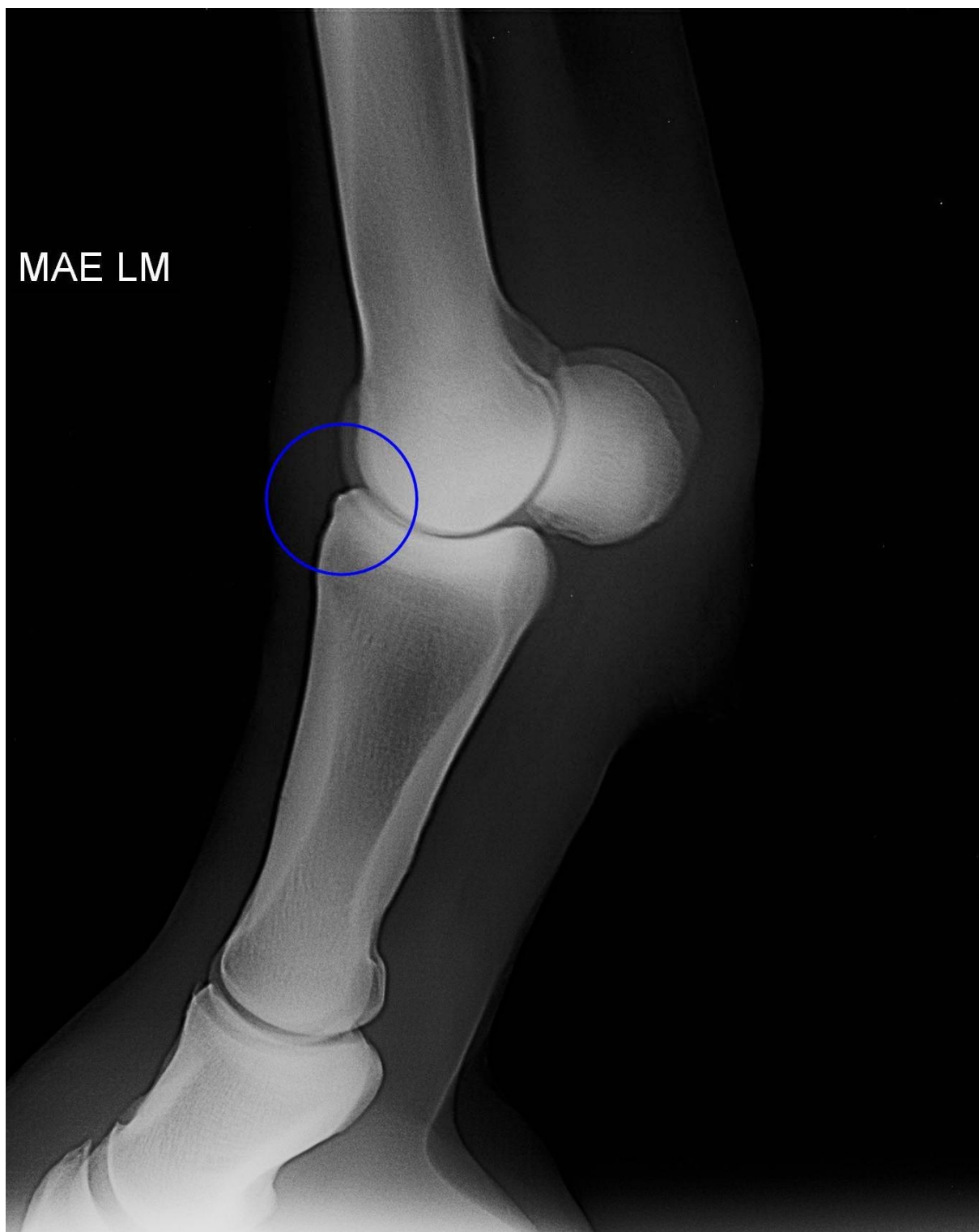
Incidência Oblíqua DLPM – Caso 2



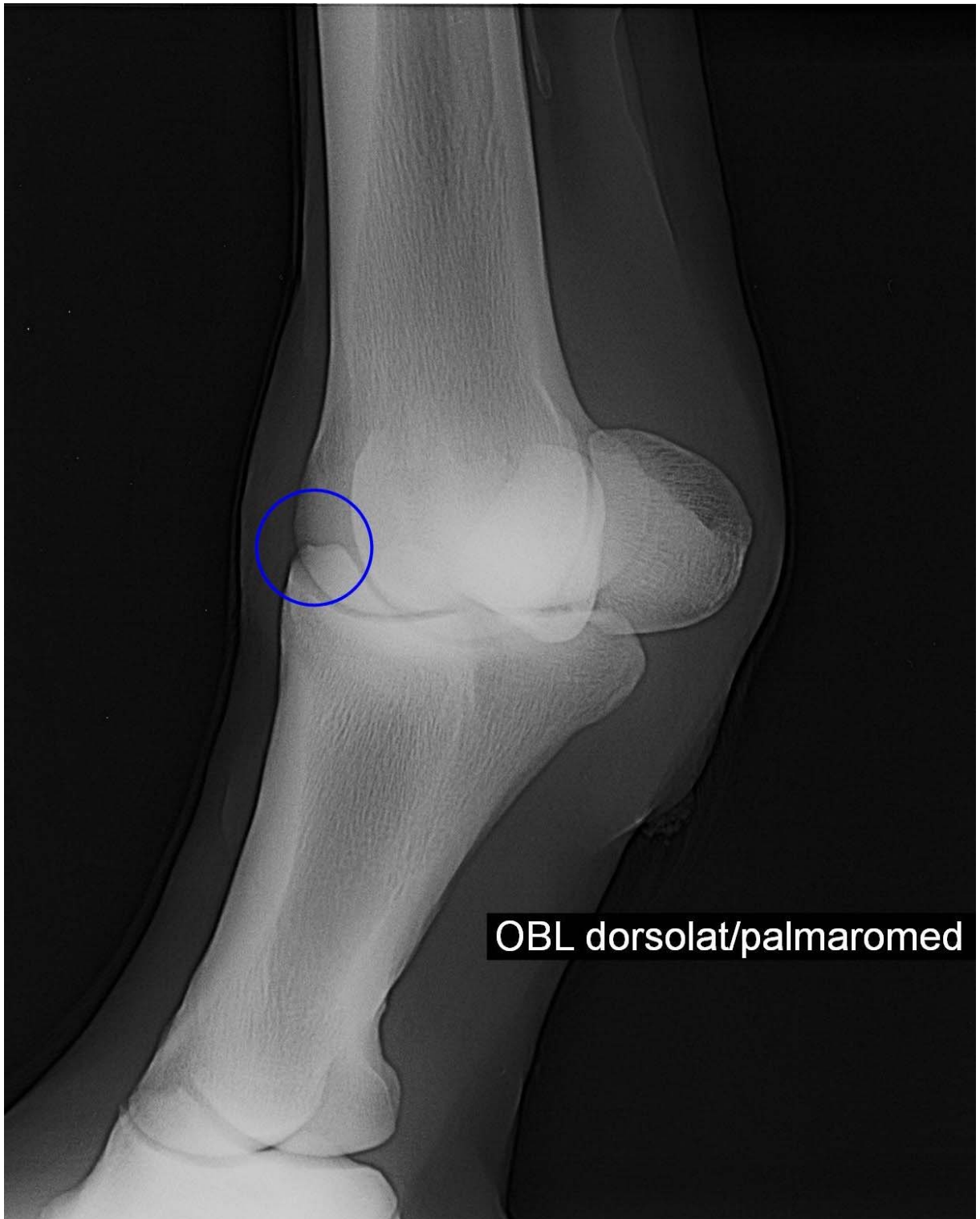
Incidência Oblíqua DMPL – Caso 2



Incidência DP – caso 3



Incidência LM – Caso 3



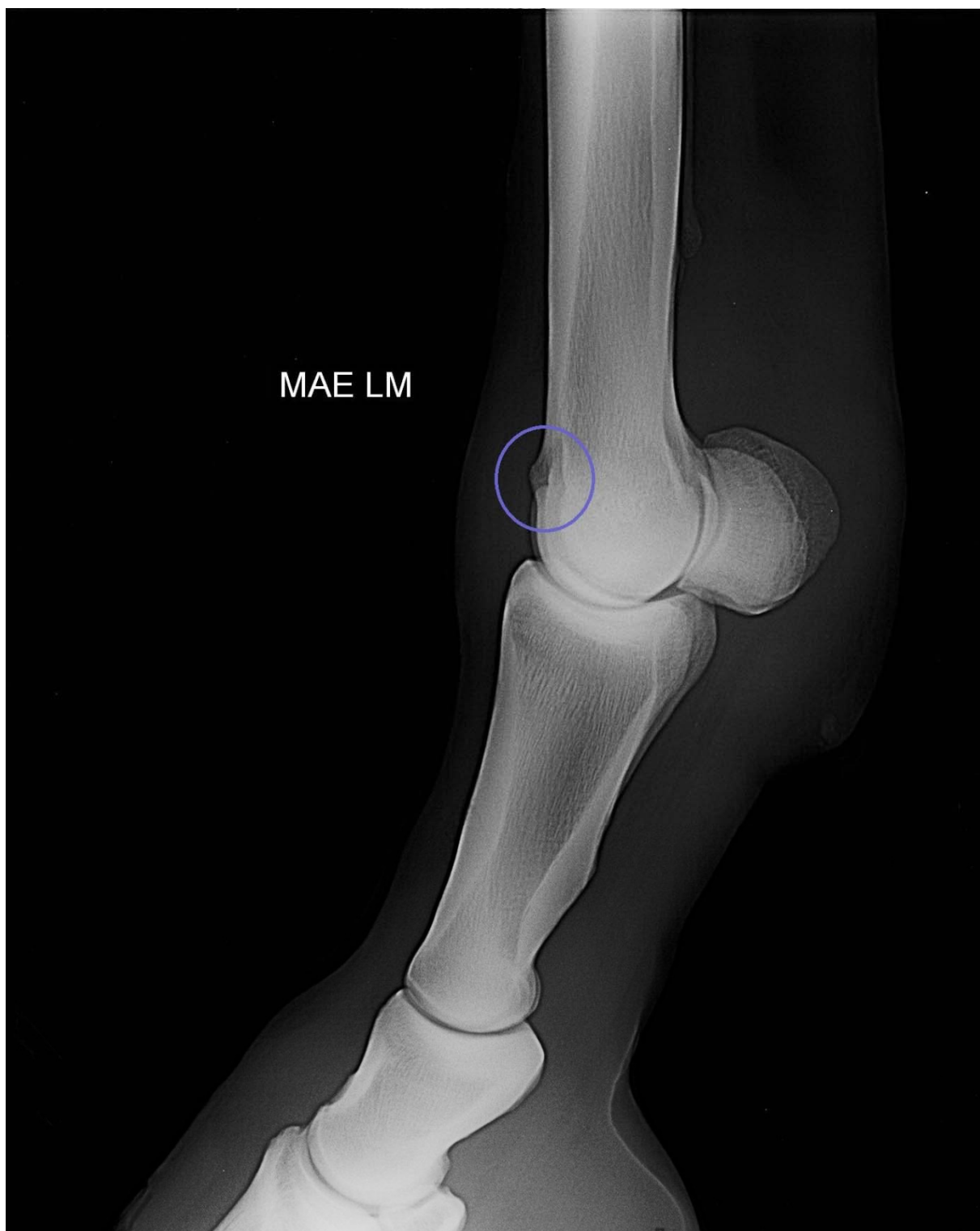
Incidência Oblíqua DLPM – Caso 3



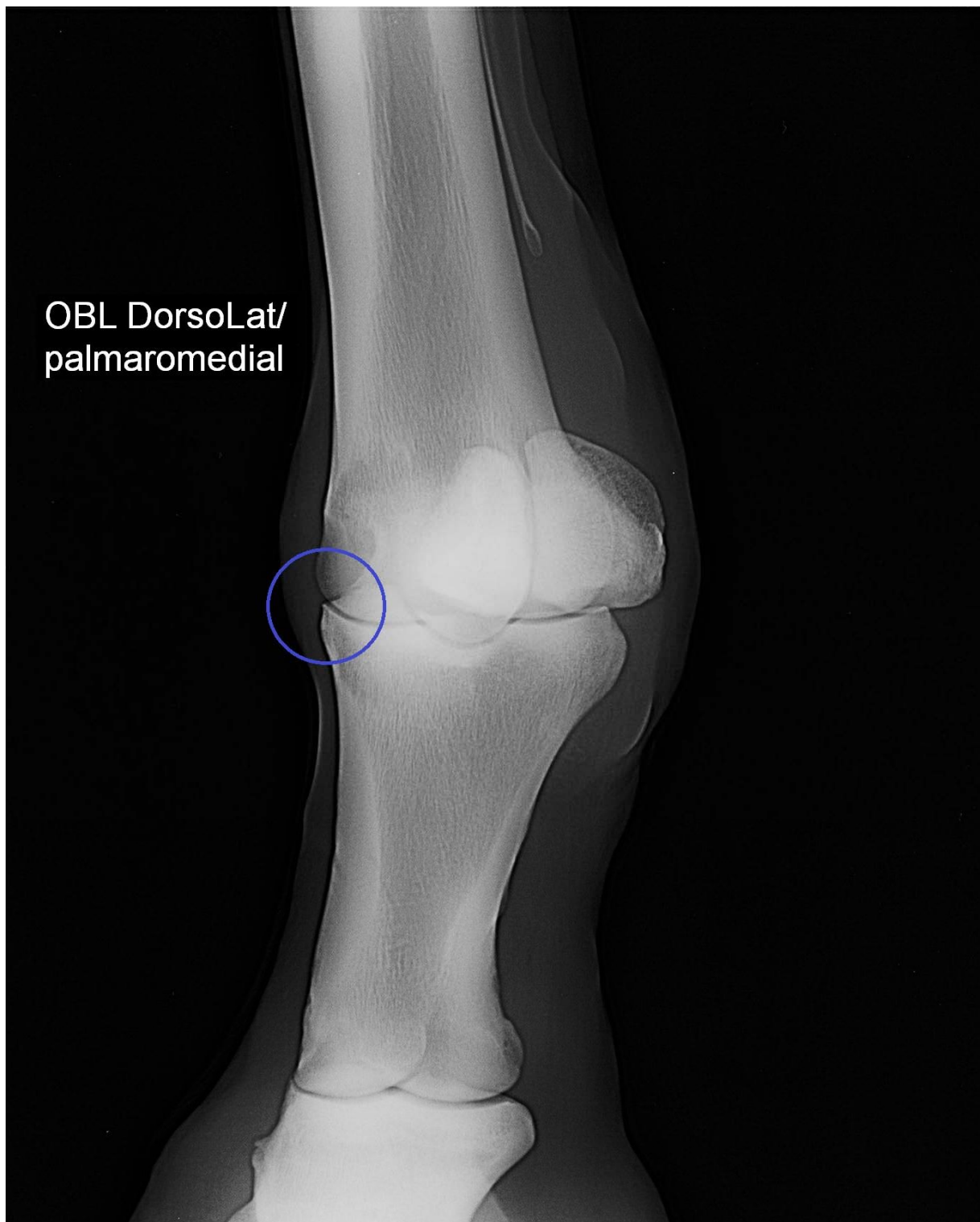
Incidência Oblíqua DMPL – Caso 3



Incidência DP – Caso 4



Incidência LM – Caso 4



Incidência Oblíqua DLPM – Caso 4



Incidência Oblíqua DMPL – caso 4